



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Fructooligosacáridos y obtención de azúcares totales
cristalizado del aguamiel de *Agave americana* L.**

(maguey)

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencia de los
Alimentos

AUTOR

Nelson BAUTISTA CRUZ

ASESOR

Dra. Gladys Constanza ARIAS ARROYO

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Bautista N. Fructooligosacáridos y obtención de azúcares totales cristalizado del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2019.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Vicerrectorado de Investigación y Posgrado
Dirección General de Biblioteca y Publicaciones

Dirección del Sistema de Bibliotecas y Biblioteca Central



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor (dato opcional): **0000-0002-2108-4130**

Código ORCID del asesor o asesores (dato obligatorio): **0000-0001-8674-4147**

DNI del autor: **10260086**

Grupo de investigación: **INNOVACIÓN, DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE PRODUCTOS FUNCIONALES**

Institución que financia parcial o totalmente la investigación:

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Debe incluir localidades y/o coordenadas geográficas:

- 1. Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM**
- 2. Anexo de San Antonio de Pomacocha, distrito de Vischongo, provincia de Vilcahuamán, departamento de Ayacucho (Perú) (Longitud 073°53'46,75", Latitud S13°39'20,52")**

Año o rango de años que la investigación abarcó:

2017 a 2019



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGISTER EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

Siendo las **13:00 hrs. del 27 de noviembre de 2019** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Evaluador de tesis, presidido por el Dr. Américo Jorge Castro Luna e integrado por los siguientes miembros: Dra. Gladys Constanza Arias Arroyo (Asesora), Mg. Félix Hugo Milla Flores y el Mg. Oscar Herrera Calderon; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"Fructooligosacáridos y obtención de azúcares totales cristalizado del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)"**, presentada por el Bachiller en Farmacia y Bioquímica **NELSON BAUTISTA CRUZ**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magister en Ciencia de los Alimentos**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación el Jurado Evaluador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

Diecisiete (17) muy bueno

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Bachiller en Farmacia y Bioquímica **NELSON BAUTISTA CRUZ**, el Grado Académico de Magister en **Ciencia de los Alimentos**.

Siendo las *14:10* hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las *14:15* hrs. del 27 de noviembre de 2019.


Dr. Américo Jorge Castro Luna (P.P., D.E.)
Presidente


Dra. Gladys Constanza Arias Arroyo (P. P., T.C.)
Miembro - Asesora


Mg. Félix Hugo Milla Flores (P. P., T.C.)
Miembro


Mg. Oscar Herrera Calderon (P. Aux. T.C.)
Miembro

Observaciones:

DEDICATORIA

A Dios por sobre todas las cosas, el Maestro creador de todo lo que existe, por darme la vida, salud y quién es el soporte de mi vida en cada momento y en cada lugar.

A mis padres Jesús y Lorenza por ser mis motivos de superación constante, por su amor infinito, por creer en mí y todo su apoyo.

A mi amada esposa Ángela Díaz, quien, con su amor, comprensión, motivación y su apoyo hicieron posible la realización de este trabajo.

A mis hermanos Edgard, Reyna, Aidé y Fabián; mis sobrinos Patricia, Kathleen, Rodrigo, Julie y Lucas quienes serán siempre mi motivo de constante superación.

Para mis tíos Gregorio Fernández y Alejandra Bautista y mis primos que conforman la familia Bautista en el pueblo pujante San Antonio de Pomacocha, distrito de Vischongo, provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho (Perú); quienes participaron incondicionalmente en el trabajo de extracción y recolección de las muestras, asimismo, contribuyeron con la información sobre el aguamiel. Este trabajo va dedicado para ellos por confiar en mi persona para investigar los recursos que ellos aprovechan.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora, la Dra. Gladys Arias Arroyo, mi infinito agradecimiento por la motivación, apoyo constante, por su guía en cada una de las etapas de la realización de este trabajo.

A los docentes y personal administrativo de mi querida Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM, quienes han participado de distintas formas para el cumplimiento de esta meta.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN	viii
SUMMARY	ix
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.2 Objetivos	2
1.2.1 Objetivo general.....	2
1.2.2 Objetivos específicos	2
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Antecedentes	4
2.2 Aspectos teóricos	7
2.2.1 <i>Agave americana</i> L. (maguey).....	7
2.2.2 Aguamiel de <i>Agave americana</i> L. (maguey)	10
2.2.3 Fructooligosacáridos (FOS)	14
2.2.4 Azúcar cristalizado.....	19
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	22
3.1 Tipo y diseño de investigación.....	22
3.2 Unidad de estudio	22
3.3 Tamaño de muestra.....	22
3.4 Recolección y transporte de muestras de “aguamiel”	23
3.5 Almacenamiento y conservación de aguamiel de <i>Agave americana</i> L. (maguey).....	24
3.6 Cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) en aguamiel de <i>Agave americana</i> L. (maguey)	25
3.7 Obtención de azúcares totales cristalizado de aguamiel de <i>Agave americana</i> L. (maguey)	27
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	38
4.1 Cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) en “aguamiel” de <i>Agave americana</i> L. (maguey)	38
4.2 Obtención de azúcares totales cristalizado de aguamiel de <i>Agave americana</i> L. (maguey)	40
CAPÍTULO V. DISCUSIONES	54
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	60
CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
CAPÍTULO VIII. ANEXOS	67

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 2. Contenido de fructooligosacáridos (FOS) en muestras frescas de algunos alimentos

Tabla 3. Evaluación organoléptica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 4. Evaluación fisicoquímica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 5. Evaluación microbiológica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 6. Etapas y variables controlados en la obtención de azúcar cristalizado del aguamiel *Agave americana* L. (maguey)

Tabla 7. Equivalencia de escala de categoría con calificación por puntos utilizado en la evaluación sensorial

Tabla 8. Evaluación organoléptica del azúcar cristalizado obtenido del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 9. Evaluación fisicoquímica del azúcar cristalizado obtenido del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey).

Tabla 10. Evaluación microbiológica del azúcar cristalizado obtenido del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 11. Resultado de la evaluación cualitativa de azúcares en el “aguamiel de *Agave americana* L.(maguey)”

Tabla 12. Resultado de identificación de fructooligosacáridos en el “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” por cromatografía de capa fina

Tabla 13. Resultado de evaluación fisicoquímica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 14. Contenido de Fructooligosacáridos y otros azúcares en muestra fresca del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 15. Resultado de evaluación organoléptica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” previo al proceso de obtención de azúcares

Tabla 16. Resultado de evaluación fisicoquímica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” previo al proceso de obtención de azúcares

Tabla 17. Resultado de evaluación microbiológica del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) previo al proceso de obtención de azúcares

Tabla 18. Resultado de ensayos de clarificación del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” con CaO a diferentes temperaturas en tiempo de 10 minutos

Tabla 19. Resultado de ensayos de clarificación del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” con $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ + CaO (0,12 g/L) a 85 °C y tiempo de 10 minutos

Tabla 20. Características finales del aguamiel clarificado usando la mezcla de agentes clarificantes el CaO y $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$

Tabla 21. Resultado de ensayos de evaporación de 200 mL de aguamiel *Agave americana* L. (maguey) para obtener un jarabe de 70 grados brix

Tabla 22. Resultados de evaluación sensorial de los jarabes de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” obtenido por evaporación a diferentes temperaturas

Tabla 23. Resultados de evaluación organoléptica de los jarabes del aguamiel *Agave americana* L. (maguey) obtenidos por evaporación a diferentes temperaturas

Tabla 24. Características finales del jarabe del “aguamiel *Agave americana* L. (maguey)” con mayor puntuación dada por el panel de evaluación sensorial

Tabla 25. Resultados de ensayos de cristalización de los azúcares del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 26. Resultados de la evaluación sensorial de los cristales de azúcar del “aguamiel *Agave americana* L. (maguey)” obtenidos en la cristalización a diferentes temperaturas

Tabla 27. Resultados de la evaluación organoléptica de cristales de azúcar del “aguamiel *Agave americana* L. (maguey)” obtenidos por cristalización a diferentes temperaturas.

Tabla 28. Tamaño y morfología de los cristales de azúcar del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” obtenidos a diferentes temperaturas

Tabla 29. Variación de humedad de los cristales de azúcar del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” según la temperatura y el tiempo de secado

Tabla 30. Resultado de los sólidos insolubles en los cristales de azúcar del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” según los temperaturas y tiempos de secado

Tabla 31. Características del azúcar cristalizado de “aguamiel del *Agave americana* L. (maguey)” seleccionado según el mayor puntaje del panel de evaluación sensorial

Tabla 32. Resultado de la evaluación organoléptica del azúcar cristalizado seleccionado de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 33. Resultado de la evaluación sensorial del azúcar cristalizado seleccionado de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 34. Resultados de la evaluación fisicoquímica del azúcar cristalizado de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 35. Resultados de cuantificación de FOS y monosacáridos en el azúcar cristalizado seleccionado del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Tabla 36. Resultados de la evaluación microbiológica del azúcar cristalizado del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Plantas de *Agave americana* L. (maguey) protegiendo de la erosión los terrenos empinados en el anexo de Pomacocha, provincia de Vilcashuamán (Ayacucho, Perú)
- Figura 2.** Pocillo con contenido de aguamiel en el tallo de *Agave americana* L. (maguey).
- Figura 3.** Raspado de las paredes del pocillo de *Agave americana* L. (maguey) para estimular la acumulación de aguamiel
- Figura 4.** Estructura química de fructooligosacáridos
- Figura 5.** Esquema general de realización de las dos partes del estudio en “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”
- Figura 6.** Flujo de obtención, recolección y transporte de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”
- Figura 7.** Flujograma del proceso de obtención de azúcar cristalizado del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”
- Figura 8.** Representación gráfica de variación de sedimento formado usando diferentes concentraciones de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ con CaO a 0,12 g/L de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”
- Figura 9.** Representación gráfica de variación del tamaño de los cristales de acuerdo a la temperatura de cristalización
- Figura 10.** Representación gráfica de variación de la humedad según la temperatura y tiempo de secado de los cristales
- Figura 11.** Representación gráfica de la variación de los sólidos insolubles en los cristales según la temperatura y tiempo de secado

RESUMEN

Se realizó la cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) y la obtención de azúcares totales cristalizado del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey); para ambas etapas del estudio las muestras se recolectaron de la provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho (Perú). Para la cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) se utilizó el método de Montañez (2011) con algunas modificaciones, la glucosa se determinó por método enzimático de glucosa 6-oxidasa y la fructosa por diferencia. Para la obtención de azúcares totales cristalizado se adaptó el método utilizado para la obtención de azúcar cristalizado de la caña; durante el proceso se estandarizaron las variables de cada etapa y en el producto obtenido se evaluaron las características organolépticas, sensoriales, fisicoquímicas y microbiológicas. El contenido de FOS en el aguamiel fue $10,89 \pm 0,08\%$; glucosa $0,30 \text{ g}\%$; fructosa $0,93\%$; azúcares reductores directos (ARD) $1,23 \pm 0,06 \text{ g}\%$ y azúcares reductores totales (ART) $12,10 \pm 0,10\%$. Del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) se obtuvo azúcares totales cristalizado con un rendimiento de $12,45 \pm 0,21\%$; con buenas características organolépticas y la cantidad de FOS fue el $56,07 \pm 0,09\%$ de peso del azúcar cristalizado. Los azúcares totales cristalizado obtenido tuvieron formas cúbicas y amorfas; $701,67 \pm 8,89 \mu\text{m}$ de tamaños; $0,09 \text{ g}\%$ de humedad; $0,38 \pm 0,01 \text{ g}\%$ de sólidos insolubles; $0,42 \text{ g}\%$ de cenizas; $43,42 \pm 0,02 \text{ g}\%$ de ARD; $99,30 \pm 0,42 \text{ g}\%$ de ART. Los atributos sensoriales tuvieron una calificación de muy bueno a excelente y no presentó crecimiento microbiano en el control microbiológico.

Palabras clave: Maguey, FOS, aguamiel, *Agave americana*, azúcar cristalizado

SUMMARY

The quantification of fructooligosaccharides (FOS) and the obtaining of crystallized total sugars from the mead of *Agave americana* L. (maguey) was performed; For both stages of the study, samples were collected from the province of Vilcashuamán, department of Ayacucho (Peru). For the quantification of fructooligosaccharides (FOS) the method of Montañez (2011) was used with some modifications, glucose was determined by enzymatic method of glucose 6-oxidase and fructose by difference. To obtain crystallized total sugars, the method used to obtain crystallized sugar from cane was adapted; during the process, the variables of each stage were standardized and in the product obtained the organoleptic, sensory, physicochemical and microbiological characteristics were evaluated. The FOS content in mead was $10,89 \pm 0,08\%$; glucose $0,30 \text{ g\%}$; $0,93\%$ fructose; direct reducing sugars (DRS) $1,23 \pm 0,06 \text{ g\%}$ and total reducing sugars (TRS) $12,10 \pm 0,10\%$. From the *Agave americana* L. (maguey) mead, crystallized total sugars were obtained with a yield of $12,45 \pm 0,21\%$; with good organoleptic characteristics and the amount of FOS was $56,07 \pm 0,09\%$ by weight of the crystallized sugar. The crystallized total sugars obtained had cubic and amorphous forms; $701,67 \pm 8,89 \text{ }\mu\text{m}$ sizes; $0,09 \text{ g\%}$ humidity; $0,38 \pm 0,01 \text{ g\%}$ insoluble solids; $0,42 \text{ g\%}$ of ashes; $43,42 \pm 0,02 \text{ g\%}$ of DRS; $99,30 \pm 0,42 \text{ g\%}$ of TRS. The sensory attributes had a rating of very good to excellent and did not show microbial growth in microbiological control.

Keywords: Maguey, FOS, mead, *Agave americana*, crystallized sugar

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción

A nivel mundial la prevalencia de la constipación y cáncer al colon es alta; para reducir estos problemas de salud se han planteado diferentes estrategias, entre los que se encuentran los estudios y usos de especies vegetales ricos en fibras con capacidad de estimular el desarrollo de la microbiota beneficiosa del colon¹.

Los alimentos ricos en fibras con propiedades funcionales son los que contienen los fructooligosacáridos (FOS), estos azúcares son considerados fibras solubles, que se caracterizan por tener efecto prebiótico porque estimulan el crecimiento de la microbiota del colon, los considerados como probióticos. Por otro lado, en el tratamiento de diabetes, existe el problema para la preparación de los alimentos dulces, se utilizan edulcorantes sintéticos, los cuales no tienen buena aceptación por los pacientes, por lo que, es necesario realizar estudios para obtener otros edulcorantes naturales².

En Perú existen muchas especies vegetales con potenciales nutricionales y funcionales, en el departamento de Ayacucho y otras zonas altoandinas de Apurímac, Huancavelica, Cusco, Junín, Ica, etc.; se encuentra una especie vegetal que es aprovechada por sus diversas propiedades, entre ellas la alimenticia³. Esta planta cuyo nombre científico es *Agave americana* L., es conocida comúnmente en el Perú como agave, maguey, cabuya, pajpa, pita, chuchao, etc⁴. Esta especie vegetal, según las fuentes es originaria de México, crece entre los 2000 a 3800 msnm, también puede crecer a altitudes menores y mayores. Tiene diversos usos, desde el punto de vista alimenticio la parte comestible es el exudado líquido del tallo conocido con el nombre de “aguamiel” o “dulce de maguey” que se caracteriza por tener un olor *sui generis* y sabor muy dulce agradable. En el mercado peruano se comercializan algunos derivados artesanales de aguamiel como: bebidas fermentadas, chancacas, pero su aprovechamiento aun es incompleto^{3,5}.

Según estudios realizados, el aguamiel *Agave americana* L. (maguey) es un líquido de sabor dulce, contiene como componentes mayoritarios el agua (87,37%) y carbohidratos (12,03%), sobresaliendo de estos últimos los azúcares reductores totales (9,08%)⁵. Cabe destacar que, es un producto altamente inestable, fácilmente se fermenta a condiciones ambientales, este problema se puede atribuir a su alto contenido de azúcares y además existen estudios en países como México que demuestran que las especies de los géneros

Agave contienen oligosacáridos fermentables no absorbibles como los fructooligosacáridos^{6,7}. Debido a la alta inestabilidad de aguamiel, la población que aprovecha este producto, ha realizado intentos de obtener productos derivados de manera artesanal para aumentar el tiempo de vida útil; dentro de estos derivados del aguamiel se encuentran las bebidas fermentadas conocidas como *chicha de maguey*, miel y chancacas; los cuales se comercializan de una manera incipiente, por lo que, es necesario continuar con los estudios ya que, el aguamiel por su alto contenido en azúcares constituye como potencial “materia prima” para la obtención de diversos productos azucarados^{5,8}.

Se han realizado estudios de determinación de FOS en aguamiel de otras especies del género *Agave*, pero no existen estudios en aguamiel de *Agave americana* L. (maguey), solamente se hacen referencias de su presencia⁹, asimismo, no se ha realizado trabajos de obtención de azúcares totales cristalizados.

Finalmente, en Perú existen muchas zonas rurales con alto porcentaje de población con problemas económicos; es necesario continuar con los estudios de los recursos naturales para conocer sus propiedades y las formas que permitan el aprovechamiento integral de estos recursos, ya sea en su forma natural y transformada. Las condiciones de los terrenos son propicias para el cultivo de *Agave americana* L. (maguey), con este estudio también se busca rescatar y revalorar esta especie vegetal, asimismo, poner la información al alcance de la población para que se pueda explotar con fines de generar ingresos económicos y mejorar las condiciones de vida.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

- Realizar la cuantificación de fructooligosacáridos en aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) y obtener azúcares totales cristalizado.

1.2.2 Objetivos específicos

- Realizar la evaluación fisicoquímica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”.
- Realizar la identificación y cuantificación de fructooligosacáridos y glucosa en el “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”.

- Realizar la obtención de los azúcares totales cristalizado a partir de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”.
- Realizar la cuantificación de fructooligosacáridos en los azúcares totales cristalizado obtenido a partir de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”.
- Realizar la evaluación fisicoquímica, sensorial y microbiológica de los azúcares totales cristalizado obtenido a partir de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

En Perú existen muchos recursos naturales, dentro de ellos se encuentran muchas plantas alimenticias que requieren ser estudiados en forma completa para conocer su verdadera importancia alimenticia, para que de esa forma se puede aprovechar las especies con fines de alimentación humana, ya sea de manera directa u obteniendo sus diversos derivados posibles con un valor agregado. El aguamiel es un producto que se caracteriza por su alto contenido de carbohidratos (12,03%), tal como se evidenció en un estudio químico-bromatológico⁵.

El interés en el aguamiel del género *Agave*, surge como consecuencia del contenido de fructooligosacáridos (FOS), lo cual hace que se considere como alimento funcional⁹. Existen estudios de determinación de FOS en aguamiel de otras especies del género *Agave*, pero no existen estudios de cuantificación específicamente en el aguamiel de *Agave americana* L. (maguey). Se cuenta con los siguientes trabajos previos:

En un estudio se realizó la extracción, aislamiento y caracterización de inulina en tallos de *Agave sisalana*; la caracterización se realizó utilizando métodos instrumentales. Concluyeron que, existe una prevalencia de oligosacáridos con grado de polimerización (GP) en un rango de 5 a 13, además revelaron que los tallos de *A. sisalana* contienen inulina con características similares a las extraídas de otras especies como *Agave tequilana* o *Agave atrovirens*¹⁰.

En otro trabajo evaluaron el efecto de la inoculación de bacterias promotoras en el crecimiento de las plantas y el contenido de azúcar en *Agave americana* L., concluyeron que las cepas nativas de las raíces de esta planta tuvieron un efecto significativo en la estimulación del crecimiento de la planta y a la vez la producción de azúcares como los fructanos¹¹.

En dos trabajos llevados a cabo en diferentes años se estudiaron la producción de azúcares fermentables. En el primer trabajo realizaron estudios en las piñas (tallos) de *Agave americana* L.; llegando a la conclusión que, “es una buena materia prima” para la obtención de jarabe con alto contenido de fructosa (11,22 g/L), además que el contenido de los fructanos fue de 32,8%, lo cual constituyen el 70 % de los sólidos totales del

jarabe; también plantearon que el jarabe obtenido se puede utilizar como aditivo alimentario y como sustrato en la biotecnología para la producción de enzimas y ácido láctico¹². En el segundo trabajo se realizó en las piñas de *Agave tequilana* Weber variedad azul, a través de hidrólisis ácida de los azúcares utilizando el ácido sulfúrico y fosfórico a diferentes tiempos y temperaturas; concluyeron que, la mayor concentración de azúcares reductores totales fue en el hidrolizado con el ácido fosfórico (1.5%) a 80 °C y 123 minutos, siendo la fructosa el componente mayoritario (134,44 g/L)¹³.

En otro trabajo cuantificaron la inulina y fructooligosacáridos en la cabeza y las hojas del *Agave tequilana* Weber azul utilizando el método enzimático de Wight & Niekerk (1983); los autores llegaron a la conclusión que, la inulina constituye el 43,24% del total de los carbohidratos de la cabeza, mientras los FOS constituyen el 24,96%. Plantearon que a partir de las cabezas y las hojas de esta especie de *Agave* se pueden obtener jarabes con alto contenido de “fructosa, fructosa cristalina, inulina y FOS”⁶.

En otro trabajo determinó que, el perfil de oligosacáridos de *Agave tequilana* cambia con la edad de la planta; se observó que la concentración más rica de oligofructanos de bajo peso molecular están en plantas jóvenes (plantas de 2 años), pero la mayor concentración de fructanos (97,3% del total de azúcares) se observó en plantas de mayor edad (6 ½ años), además dentro del perfil de azúcares, las plantas de dos años presentaron mayor concentración de monosacáridos como fructosa (15,12%) y glucosa (13,53%)¹⁴. Mientras tanto, en un estudio similar realizado en *Agave atrovirens*, donde se determinó la influencia de la edad en la actividad del complejo enzimático 1-SST-1-1-FFT y en la concentración de carbohidratos solubles en las hojas utilizando métodos instrumentales, se concluyó que la sacarosa es el carbohidrato predominante en las hojas de 3 y 6 años, pero a los 9 años los fructanos son los carbohidratos mayoritarios¹⁵.

En otro trabajo se realizó la “determinación, cuantificación e hidrólisis de inulina en el aguamiel de agave pulquero (*Agave salmiana*)”; se concluyó que el aguamiel de la especie estudiada contiene 32 % de FOS del total de los azúcares presentes¹⁶.

Desde el punto toxicológico se ha realizado la cuantificación de ácido oxálico y la evaluación de “metales pesados en las hojas de *Agave americana* L. (maguey)”; llegando a la conclusión que, las hojas de *Agave americana* L. (maguey) contienen ácido oxálico en cantidades no tóxicas y no existe la presencia de metales pesados¹⁷.

En otro trabajo se realizó la evaluación fisicoquímica del aguamiel de tres variedades de maguey pulquero (*Agave spp.*)”, se estudió el aguamiel de variedades de maguey conocidos comúnmente como manzo, cenizo y amarillo. Se concluyó que no existe diferencia significativa en las características fisicoquímicas de las tres variedades, además los autores plantearon la aplicación del aguamiel como alimentos funcionales¹⁸.

Dentro de los trabajos de obtención de derivados de aguamiel de *Agave americana* L, se ha determinado la factibilidad y rentabilidad de producir jalea de chancaca de aguamiel a nivel planta piloto, se demostró que el aguamiel es una buena materia prima y muy rentable para la producción de los productos mencionados, con esto los beneficiarios directos serían las comunidades pobres de las zonas de producción de aguamiel¹⁹.

En otro estudio relacionado con el aguamiel de *Agave americana* L., se realizó la obtención de miel, luego al producto se realizó el “control de calidad y evaluación de la actividad antidiabética”; se llegó a la conclusión que el aguamiel constituye una buena materia prima para obtener miel con 65 grados brix, pH 4.71, con 73.80 % de azúcares totales y 17.4 % de humedad, además se concluyó que la miel “presenta actividad antidiabética, comparable a la del control positivo (metformina)” comprobada *in vivo* en ratones albinos²⁰.

En otro trabajo realizaron la extracción de los azúcares de las hojas del *Agave atrovirens* Karw y secaron a diferentes temperaturas para obtener un producto seco con alto contenido de FOS. Los autores llegaron a la conclusión que, la mayor cantidad de FOS (38,61%) fue obtenido a temperatura de secado de 90/50 °C (entrada/salida) con GP promedio de 4.3, los cuales varían de acuerdo con el estadio de maduración de la planta²¹.

Con la finalidad de buscar las formas de aprovechamiento de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) en las zonas de producción, se han realizado estudios preliminares de factibilidad para la producción de bebida destilada de aguamiel, se ha determinado que la producción de bebidas destiladas es altamente rentable, pero es necesario plantear el cultivo sostenible de maguey con fines agroindustriales²².

Tal como se ha evidenciado, los estudios en *Agave americana* L. (maguey) son pocos; la mayor parte de los trabajos se han realizado en otras especies del género *Agave*, además cabe destacar que, la mayoría de los estudios se han realizado fuera de Perú. En tal

sentido, contando con estas informaciones y teniendo esta especie en abundancia en varias regiones del Perú; se planteó realizar el estudio de cuantificación de FOS en aguamiel de *Agave americana* L (maguey), además se ha evidenciado que el contenido mayoritario de aguamiel son los carbohidratos, por lo que, constituye un potencial para la obtención de diversos productos derivados como el azúcar cristalizado.

2.2 Aspectos teóricos

2.2.1 *Agave americana* L. (maguey)

Es una planta originaria de México según las evidencias existentes²³, mayormente se encuentra cubriendo los terrenos baldíos o alrededores de los terrenos de cultivo en la costa y los andes del Perú. Se conoce con diferentes nombres vernaculares, dentro de ellos destacan los siguientes: agave, maguey, chuchau, pajpa y penca azul^{4,24}.

2.2.1.1 Descripción botánica

El *Agave americana* L. (maguey) es una especie vegetal “herbácea” con tiempo de floración entre los de 8 a 15 años. El desarrollo de la planta está relacionado con los factores climáticos y el tipo de suelos; en climas templados y terrenos fértiles el tiempo de floración se da hasta en 8 años⁵.

Tiene varias raíces y delgadas; el tallo se encuentra cubierto por las hojas en su estadio inmaduro y se evidencia cuando se cortan las hojas ordenadas en “forma de roseta”; “las hojas no tienen peciolo, son fibrosas, alargadas, carnosas en la base, de color verde grisáceo y en mayoría de los casos azulado, miden entre 1,20 a 2,00 m, son ligeramente cóncavas, de bordes firmes con una hilera de espinas en forma de uña de gato, terminando el vértice con una espina muy resistente de 3 a 5 cm de largo y la superficie está cubierta de una membrana resistente y blanquecina”. Las hojas albergan fibras longitudinales muy resistentes y maleable. El tallo floral tipo corcho emerge antes de la floración, puede medir de 6 a 8 m de altura, se ramifica para dar origen a panículos de varios centenares de flores; las flores son amarillas, “tubulares y de 5 cm de largo”; “el fruto es una cápsula triangular, prismática oblonga, de 4 cm que contiene muchas semillas”; las semillas son planas de color negro, con tamaños de 6 a 8 mm y la planta muere al producir las semillas y los hijuelos^{5,24,25}.

2.2.1.2 Cultivo y explotación

El *Agave americana* L. (maguey) crece en los valles interandinos del Perú, en altitudes que varían entre los 800 – 3000 m.s.n.m., pudiéndose encontrar también a altitudes menores y mayores⁵. La mayor concentración de planta en las zonas de clima templado de Ancash, Valle del Mantaro, Cajamarca, Cusco, Ayacucho, Huancavelica, Apurímac, Ica y Huánuco^{5,8}.

En el departamento de Ayacucho (Perú), se encuentran mayormente a menos de los 2500 m.s.n.m. En la “provincia de Vilcashuamán”, se encuentra en las zonas de cultivo maíz y frutales, se puede encontrar generalmente en forma silvestre pero también cultivada con fines ornamentales y de protección de terrenos de cultivo, como cercos vivos. En la forma silvestre se encuentra en terrenos no cultivados solos o formando parte de los bosques^{5,26}.

En Perú no existe cultivos con fines de explotación industrial de ninguna especie del género *Agave*, aún no se cultiva con fines de explotación alimenticia; si se cultivan tiene fines ornamentales, soporte de terrenos de cultivo de la erosión y protección de los sembríos^{5,8}. Sin embargo, otros países aprovechan industrialmente especies de *Agave*²⁷, Brasil industrializa para la producción de fibras y México para la producción bebidas alcohólicas fermentadas (*pulque* y *mezcal*) y bebidas alcohólicas destiladas de bandera como el “tequila”³.

El estudio de la composición nutricional del maguey realizado en el año 2006 ha sido transmitido a los pobladores de la provincia de Vilcashuamán que aprovechan el maguey para la obtención del aguamiel, asimismo, en el trabajo con los pobladores se planteó la necesidad de realizar el cultivo para que la explotación sea sostenible. En ese sentido en la provincia de Vilcashuamán (Ayacucho - Perú) ya se cultiva con fines alimentarios; con los cuidados necesarios, el suministro de abono y agua, la planta se desarrolla muy bien y el tiempo de maduración se acorta y también el rendimiento de aguamiel aumenta ya que, esto depende del tamaño de la planta⁵.



Figura 1. Plantas de *Agave americana* L. (maguey) protegiendo de la erosión los terrenos empinados en el anexo de Pomacocha, provincia de Vilcashuamán (Ayacucho, Perú)

2.2.1.3 Usos alimentarios de *Agave americana* L. (maguey)

A nivel alimenticio, el exudado de *Agave americana* L. (maguey) es utilizado en el Perú, este producto proviene del tallo de la planta y es conocido como “dulce de maguey”, es aprovechado por las comunidades que conocen sus propiedades alimenticias. Este exudado es comúnmente denominado en Perú y otros países como “aguamiel de maguey”²⁴.

El consumo de “aguamiel” por la población conocedora del potencial alimenticio mayormente es bajo la forma natural, se usa como endulzante en postres dulces mazamoras, postres y refrescos”. Se usan también como productos procesados bajo la forma de “chancacas, miel” y néctar; es importante considerar que bajo estos derivados es factible su comercialización⁵.

En México, Guatemala y Colombia, el aguamiel de otras especies del género *Agave* es utilizado para la obtención de bebidas fermentadas y destiladas como “el mezcal y el

tequila”. El “tequila” deriva del *Agave tequilana* y constituye una de las importantes agroindustrias mexicanas^{28,29}.

2.2.2 Aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

El “aguamiel” es un producto líquido que se extrae de *Agave americana* L. (maguey), se caracteriza por ser un líquido homogéneo de sabor dulce, olor *sui generis* y con variantes de colores que van de amarillo claro a ligeramente blanquecino. El color depende de las estaciones del año, en la temporada de lluvia tiene un color blanquecino opaco y en la temporada seca, tiene color amarillo claro transparente⁵.

Los nombres con los que se conocen el “aguamiel” en Perú varían según los lugares, siendo los más comunes los siguientes: “upi de cabuya”, “caldo de cabuya o maguey”, “dulce de cabuya” y “aguamiel de maguey”, con esta última denominación se conoce en México y algunos países hispanoamericanos^{8,25}.

La población lo explota mayormente por el conocimiento de su sabor dulce, la mayor parte de las plantas aprovechadas con fines alimenticios no son cultivadas⁵.

2.2.2.1 Forma de extracción de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Para el proceso de obtención de “aguamiel” de *Agave americana* L. (maguey), no hay técnicas definidas en Perú. En cada sitio de extracción existe variantes, pero la forma que fue estandarizada en un trabajo anterior es como sigue⁵:

El punto de partida es la selección de un ejemplar de maguey cuya edad oscila entre 8 a 15 años y que debe ser antes del florecimiento. Luego en el tallo del ejemplar se acondiciona un “pocillo” (hoyo) con un volumen de 500 a 1000 ml (ver Figura 2), el pocillo se debe proteger de la contaminación externa. Durante la construcción del “pocillo” en la planta se debe proteger la piel de manipulador del contacto con el exudado de las hojas, ya que este contiene cristales de oxalato de calcio que daña la piel generando una inflamación y un escozor intenso por mucho tiempo¹⁵. La piel se puede proteger utilizando la indumentaria de protección adecuada⁵.

Luego de 10 a 12 horas se extrae el primer líquido blanquecino, viscoso, con sabor ligeramente amargo; este exudado aún no se puede usar para el consumo humano; una vez extraído el primer exudado se realiza el raspado del hoyo, necesario para la siguiente acumulación. Cada 12 horas se recolecta el exudado y se raspa las paredes del hoyo por

“un tiempo de tres días”, a partir del cuarto día el exudado ya es apto para el uso en la alimentación humana. Después de cada recolección del “aguamiel” se debe raspar la pared del “pocillo” (ver Figura 3), este procedimiento se repite hasta agotar el exudado, el tiempo de extracción finaliza cuando ya no se deposita el aguamiel en el pocillo. El aguamiel se recolecta cada 12 h, porque, a mayor tiempo en el pocillo se fermenta. Cada vez que se haya recolectado, el “aguamiel” deberá utilizarse entre las 2 a 4 primeras horas, ya que, después de este momento se inicia el proceso de fermentación, lo cual dependerá también de la temperatura ambiental. De cada planta se obtiene entre “4 a 5 litros” por cada día durante 60 días, siendo el volumen total entre 240 litros a 300 litros por cada planta⁵.



Figura 2. Pocillo con contenido de “aguamiel” en el tallo de *Agave americana* L.
(maguey)



Figura 3. Raspado de las paredes del pocillo en *Agave americana* L. (maguey) para estimular la acumulación de aguamiel. Fuente. Foto tomada de Bautista (2006)⁵

2.2.2.2 Formas de consumo de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Comúnmente el “aguamiel” es utilizado en forma natural como aditivo, se usa como endulzante en la preparación de “desayunos, mazamorras y otros dulces”. En muchos casos el “aguamiel” se utiliza directamente como “bebida refrescante” en el intermedio de las jornadas laborales agrícolas^{5,8}.

Hoy en día, se consume mayormente como “*chicha de maguey*”, producto fermentado muy agradable. En algunas comunidades de la provincia de Vilcashuamán ya es una de las bebidas tradicionales. En contraparte a la “*chicha de jora*”, la “*chicha de maguey*” es una bebida dulce y gasificada; su sabor característico agradable ha llevado a ser una de las bebidas con mayor preferencia por los productores y los turistas. En algunos lugares, durante las festividades, se consume con mayor frecuencia que la “*chicha de jora*”⁵.

2.2.2.3 Derivados de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) en el mercado peruano

Debido al problema de comercializar el “aguamiel” en su forma natural, el conocimiento de este producto se ha difundido a través de la distribución de sus productos derivados^{5,26}.

Entre los productos comercializados en el mercado peruano se encuentran la “*chicha de maguey*”, que es el derivado que más destaca; además se han realizado trabajos de obtención “chancaca” y “miel de aguamiel de maguey”^{8,25}. A pesar de que no existen procesos que permitan el aprovechamiento sostenible, pero ya constituyen una de las formas de darle un valor agregado al “aguamiel”; estos productos se comercializan de manera incipiente como edulcorantes siendo una de las alternativas de hacer frente a los problemas económicos de las poblaciones vulnerables del Perú^{3,8}. En 2006 se realizó el trabajo de obtención de néctar de aguamiel de maguey, teniendo como resultado un producto de buena aceptación, este producto forma parte de los productos que serán transferidos a los pobladores del anexo de Pomacocha de la provincia de Vilcashuamán (Ayacucho) con quienes se trabajó también en ese momento⁵.

2.2.2.4 Valor nutricional de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

El agua es el componente mayoritario (87,37%) de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) seguido por carbohidratos (12,03%). Dentro de los minerales destacan calcio con 9,72 mg%, magnesio con 8,76 mg% y fósforo con 4,20 mg%. En la tabla 1 se muestra la composición nutricional del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”⁵.

Tabla 1. Composición nutricional del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Descripción	Valores
Humedad (g%)	87,38
Proteínas (g%)	0,30
Grasas (g%)	0,01
Carbohidratos (g%)	12,03
Cenizas (g%)	0,23
Fibra cruda (g%)	0,05
Energía total (Kcal/100 ml de muestra)	49,41
Calcio (mg%)	9,72
Magnesio (mg%)	8,60
Fósforo (mg%)	4,20
Sodio (mg%)	5,92
Potasio (mg%)	14,56
Fierro (mg%)	0,06
Cobre (mg%)	0,03
Zinc (mg%)	0,07
Vitamina C (mg%)	14,82

Fuente: Datos tomados de Bautista (2006)⁵

2.2.3 Fructooligosacáridos (FOS)

Son azúcares sintetizados como reserva de energía en algunas especies de vegetales como “la cebolla, alcachofas, ajo, trigo, tomates, plátano” y otros productos como la “miel”. Químicamente son oligopolímeros con enlaces β -2,1 de D-“fructosa” unida a una molécula de D-“glucosa”, tipo de enlace que no puede ser hidrolizada por las enzimas digestivas del hombre, pero constituyen sustratos para la fermentación bacteriana⁹. Los FOS tienen entre 3 a 5 de grado de polimerización (GP)³⁰. Entre los FOS mas estudiados y conocidos se encuentran la de cadena más corta que es de dos fructosas y una glucosa (“1-kestosa”), la de cadena de 3 fructosas y una glucosa (“nistosa”) y la de cadena de 4 fructosas y una glucosa (1- β fructofuranosil nistosa)⁹.

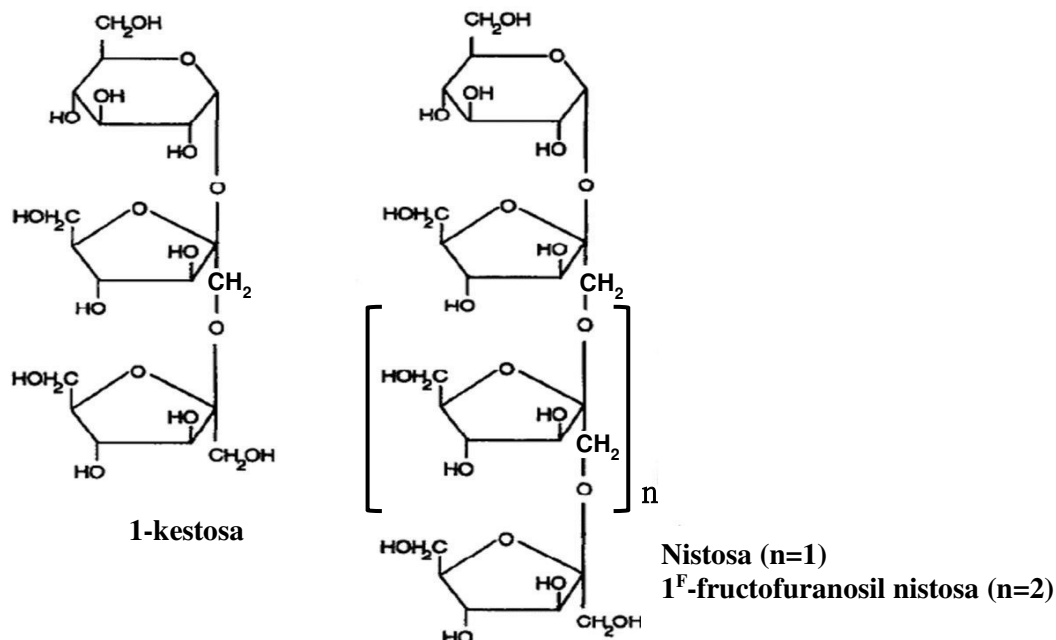


Figura 4. Estructura química de fructooligosacáridos.

Fuente. Adaptado de Yun (1996)⁹.

2.2.3.1 Propiedades fisicoquímicas de FOS

Para el FOS de la cadena más corta (“1-kestosa”) la “rotación específica de +28.5 y una temperatura de fusión entre 199 – 200 °C”. El poder edulcorante de la “1-kestosa, nistosa y 1-β-fructofuranosilnistosa” supera a una solución de sacarosa de las mismas concentraciones^{9,31}.

Los fructooligosacáridos tienen alta capacidad de captación de agua del medio ambiente y “su capacidad de retención de agua es mayor que la de sacarosa e igual que la del sorbitol”. Una solución de FOS en la misma concentración que una solución de sacarosa, tiene mayor viscosidad⁹.

La resistencia a temperaturas altas igualmente supera al de sacarosa, mantienen estabilidad a pH de 4 – 7 y a la temperatura de refrigeración por 12 meses. Por estas razones se utilizan para variar el punto crioscópico de los alimentos que se almacenan en congelación, asimismo, para reducir la “caramelización” en los alimentos procesados. Tiene un valor calórico de 1,5 a 2,0 Kcal/g; lo cual constituye casi la mitad de lo que genera los azúcares hidrolizables².

2.2.3.2 Presencia de FOS en los alimentos

Muchos alimentos contienen FOS como componentes originarios, en la mayoría de los estudiados se encuentran de 0,3 % a 6,0 % en muestra fresca. Las hortalizas y raíces como “espárragos, ajos, raíz de achicoria, raíz de dalia, cebollas, tomate y alcachofas”; productos azucarados como la miel, y cereales como el trigo son los que tienen alto contenido de fructooligosacáridos^{2,9}. En la tabla 2 se muestran el contenido de FOS en algunos alimentos.

Tabla 2. Contenido de fructooligosacáridos (FOS) en muestras frescas de algunos alimentos

Alimentos	Fructooligosacárido (g%)
Ajo	01 - 03
Alcachofa	< 1
Alcachofa de Jerusalén	10 -20
Achicoria (raíz)	05 -10
Cebolla	02 - 06
Bananos	0,3 – 0,6
Espárragos (raíz)	< 0,1
Zanahoria	0,2 - 0,4

Fuente. Datos tomados de Yun (1996)⁹

2.2.3.3 Fructooligosacáridos en especies vegetales del género *Agave*

Las especies del género *Agave* agrupa plantas que poseen fructosiltransferasas, enzimas implicados en la síntesis de fructooligosacáridos⁹.

Durante el tiempo de desarrollo de la planta, los fructanos se sintetizan y se acumulan en el tallo; sin embargo, cuando la planta entra en la etapa reproductiva, generalmente después de 6 a 8 años, los fructanos se hidrolizan en azúcares simples, azúcares necesarias para proveer energía requerida para generar y mantener el tallo floral; en este punto la sabia es mucho más dulce. En el género *Agave*, los fructooligosacáridos son las

principales fuentes de reserva energética, cuya estructura y peso molecular depende de la especie³³.

Algunas especies del género *Agave* tienen un grado de polimerización (GP) que varía de 3 a 29 con presencia importante de enlaces β (2–6) lo cual le da una estructura ramificada, debido a esto, los fructanos de *Agave* se clasifican como fructanos mixtos y fructanos neoseries³³.

En Perú y otros países como México existen diversas especies de *Agave* que se caracterizan por haber desarrollado diversos cambios metabólicos y fisiológicos para sobrevivir en condiciones de escasez de agua y nutrientes; uno de estos cambios es el metabolismo ácido, donde alguno de los productos son los fructooligosacáridos, azúcares de interés en la salud por sus propiedades funcionales³⁴.

2.2.3.4 Propiedades funcionales de FOS

A los fructooligosacáridos se les atribuyen diferentes propiedades funcionales, los más importantes se analizan a continuación:

a) Efecto prebiótico

Se sabe que la microbiota “buena” (probióticos) del colon cumple una función muy importante en el funcionamiento del intestino y la regulación de la función de otros órganos³¹. Los FOS estimulan el desarrollo de la microbiota intestinal “buena”; como productos de la fermentación de éstos se generan ácidos grasos de cadena corta como el ácido láctico, ácido propiónico y el ácido butírico; estos productos disminuyen pH de la mucosa intestinal favoreciendo el desarrollo de las bifidobacterias y los *Lactobacillus*, y a la vez generan condiciones adversas para las bacterias potencialmente patógenas^{35,36}.

b) “Producción de ácidos grasos” en el colon

El metabolismo de FOS por la microbiota del colon origina “ácidos grasos de cadena corta, gases y lactatos”. Este tipo de ácidos grasos se absorben fácilmente a nivel del colon e intervienen en diversas funciones del organismo. El ácido butírico es utilizado como fuente de energía por las células epiteliales del colon, el propionato por el hígado y mientras tanto el acetato por las células musculares³⁵.

El ácido propiónico participa en la reducción de gluconeogénesis a nivel del hígado impidiendo la formación de la urea en este órgano. El ácido acético disminuye el pH de

la mucosa intestinal inhibiendo el desarrollo de las bacterias productores de metabolitos que puedan generar carcinoma. El butirato además de ser una fuente de energía interviene en la regulación del desarrollo y “diferenciación de las células de la mucosa” del colon³⁷.

c) Prevención y resolución del estreñimiento

La ingesta de FOS contribuye a un aumento de la microbiota beneficiosa del colon, esto hace que el volumen de las heces aumente por el mecanismo de la “presión osmótica” producida por ácidos grasos de cadena corta². Los FOS en altas dosis pueden actuar como laxantes, en algunas ocasiones la generación rápida de gases puede causar molestias y hasta procesos diarreicos en algunas personas³⁸.

d) Prevención de cáncer al colon

Los trabajos de investigación han puesto de manifiesto que los fructooligosacáridos pueden actuar inhibiendo cualquier tipo de carcinomas a nivel del colon, el mecanismo se da primordialmente por la estimulación del desarrollo de la microbiota buena y la producción de “ácidos grasos de cadena corta”³⁹. Con el aumento de las bacterias beneficiosas se inhibe el desarrollo de las bacterias que producen sustancias precursoras de cáncer de colon, a esto se suma el aumento de la masa del bolo fecal acelerando el tránsito intestinal. Los derivados de ácidos grasos como el butirato “aumentan la proliferación de células normales y suprime la de células cancerosas”³⁸.

También existen estudios que evidencian la relación de las sales biliares en el cáncer del colon, los FOS reducen la concentración de estas sales en el colon por disminución del pH colónico. Según los ensayos en animales, el uso de FOS en la alimentación suprimió significativamente el número de las criptas, planteándose la sugerencia de que los fructooligosacáridos pueden reducir o eliminar el desarrollo de cáncer en el colon³¹.

e) Control de glucosa y lípidos en sangre

Como producto de metabolismo de FOS se generan ácidos grasos de cadena corta que no aumenta la glucosa en la sangre; por este motivo se pueden usar los FOS de sabor dulce como sustitutos de la sacarosa en pacientes con diabetes³⁸. Además, los FOS reducen la glucosa en la sangre por la acción del ácido propiónico que reduce la gluconeogénesis y favorece el glicólisis hepática³⁴. Según los estudios, los FOS también

reducen el nivel de lípidos en la sangre, disminuyen la colesterolemia y los valores de triglicéridos en la sangre disminuyendo los riesgos de obesidad y diabetes^{2,40}.

f) Regulación de la “absorción de minerales”

Según los estudios realizados en animales se ha evidenciado que, los FOS aumentan la absorción “calcio, magnesio, fierro y zinc”⁴¹. El aumento de la cantidad de agua por el FOS en el colon y la disminución de pH por la concentración de los ácidos grasos de cadena corta favorece la solubilidad de los minerales como “magnesio y calcio”, por consiguiente, aumenta la concentración en la sangre de estos minerales³⁷. En otro trabajo se ha evidenciado que, el consumo de fructooligosacáridos mejoró la “absorción de calcio en adolescentes y mujeres postmenopáusicas”^{39,41}.

g) Modulación del sistema inmunológico

Según los estudios, el consumo de FOS en los alimentos favorece la regulación del sistema inmunológico del colon, siendo uno de ellos la regulación del contenido de Ig A e interferón (IFN)- γ en la mucosa intestinal, los cuales son secretados por las “placas de Peyer”³⁸. Se ha propuesto que, los implicados en la regulación del sistema inmune son los cambios de la microbiota intestinal, asimismo, “los ácidos grasos de cadena corta” que se generan como producto del metabolismo de FOS⁴².

2.2.4 Azúcar cristalizado

Comercialmente se refiere a la sacarosa que proviene de la caña; es un producto “cristalino, sólido, de sabor dulce”, con alta solubilidad en agua y los colores varían siendo el pardo claro el más común. Se puede obtener del “jugo de la caña, de la remolacha y de otros varios vegetales” a través de procesos de “cristalización”^{43,44}. Siendo en el Perú, la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) la primera fuente para la producción industrial⁴⁵.

2.2.4.1 Clasificación

El azúcar se clasifica principalmente por el contenido de sacarosa presente en los “cristales”, entre los tipos de azúcar se encuentran⁴⁷:

“Azúcar moreno”: es el producto obtenido por la cristalización del azúcar de la caña, a quien no se le ha realizado ningún tratamiento de purificación. Por lo que, tiene color

pardo debido a la “película de miel que envuelve a los cristales”. El porcentaje de sacarosa oscila entre “96 % y 98 %”

“Azúcar blanco”: es el azúcar procesado después de la cristalización. Los cristales son purificados para obtener mayor porcentaje de sacarosa (99,5%) y a la vez es “sulfitado” para obtener el color blanco característico de los cristales.

“Azúcar refinado”: es el azúcar que ha sido procesado para la máxima purificación, contiene la mayor concentración de sacarosa (99,8% a 99,9%). Para obtener este tipo de azúcar se utilizan “fosfatos, carbonatos” y CaO para separar la mayoría de las “impurezas”.

2.2.4.2 Proceso de obtención de azúcar cristalizado

A continuación, se toman las etapas utilizadas para la obtención del azúcar cristalizado de la caña, se indican a continuación las etapas básicas tomadas de Rein (2012)⁴⁶:

a) Clarificación

Etapas en que se trata el jugo con la cal (CaO) que al entrar en contacto con el agua forma el $\text{Ca}(\text{OH})_2$; este tratamiento se realiza con la finalidad de sedimentar las sustancias disueltas y en suspensión, las cuales se encuentran como “impurezas”. En esta etapa se busca sedimentar la materia orgánica e inorgánica eliminando así la turbidez del jugo. Con el aumento de la temperatura se favorece la capacidad “coagulante” del CaO, además, al elevar el pH (entre 7.2 y 8.0) se reduce cualquier forma de pérdida de los azúcares por inversión. En esta etapa, por acción de CaO y otras sales, se sedimentan todas las sustancias diferentes a los “azúcares”, este sedimento toma el nombre “cachaza” cuando se refiere al jugo de caña; el jugo claro libre de impurezas queda en el sobrenadante, luego puede ser regulado el pH entre 6,4 a 6,6. A nivel industrial el jugo clarificado se separa por centrifugación o filtración.

b) Evaporación

Etapas que comprende la eliminación del 80 % de contenido de “agua del jugo clarificado en la etapa anterior” aplicando temperaturas altas. El jugo de la caña posee sólidos solubles entre 10 a 12 %, se evapora hasta obtener un jarabe de 50 a 60% de sólidos. A nivel industrial, esta etapa se realiza con “evaporadores múltiples con efectos al vacío, que consisten en una solución de celdas de ebullición dispuestas en serie”. En esta etapa

se obtiene un producto con alto contenido de azúcares denominado “jarabe o meladura” con grados Brix entre 65 a 70.

c) Cristalización

Etapas en que se obtienen los cristales por el calentamiento a temperaturas altas, la cristalización ocurre cuando se rompe el equilibrio termodinámico entre la fase sólida y líquida donde a cierta concentración los azúcares pierden la solubilidad. Primero se obtiene un producto concentrado con 96 grados brix, a partir de este punto se inicia la cristalización. A nivel industrial se realiza en recipientes al vacío de un solo efecto, el producto resultante que contiene cristales y una cantidad escasa de “miel” toma el nombre de “masa cocida”; luego los cristales y la “miel” se separan por centrifugación, la miel recuperada se reprocesa para obtener cristales.

En la cristalización el manejo de la temperatura es muy importante, si bien es cierto, primero se calienta la “meladura” a temperaturas altas para eliminar la mayor cantidad posible de agua, pero una vez obtenida los cristales se debe bajar la temperatura para favorecer la cristalización de todo el azúcar. A nivel industrial, el calentamiento se realiza aplicando presión negativa y la cristalización se completa con la centrifugación.

d) Secado

Etapas en la cual el azúcar crudo obtenido se somete al secado con la finalidad de eliminar la mayor cantidad posible de agua. La humedad final de los cristales y la presencia de partículas insolubles depende de las temperaturas de secado, por eso es importante definir la temperatura adecuada de secado.

e) Enfriado

Etapas en que se enfrían los cristales antes del envasado, la temperatura adecuada es entre 40 – 45 °C aproximadamente.

f) Envasado

Etapas en que el azúcar seco y frío se empaca en envases, en esta etapa es importante tener en cuenta el uso del envase adecuado para mantener la humedad de los cristales.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de investigación

Estudio cuantitativo y descriptivo

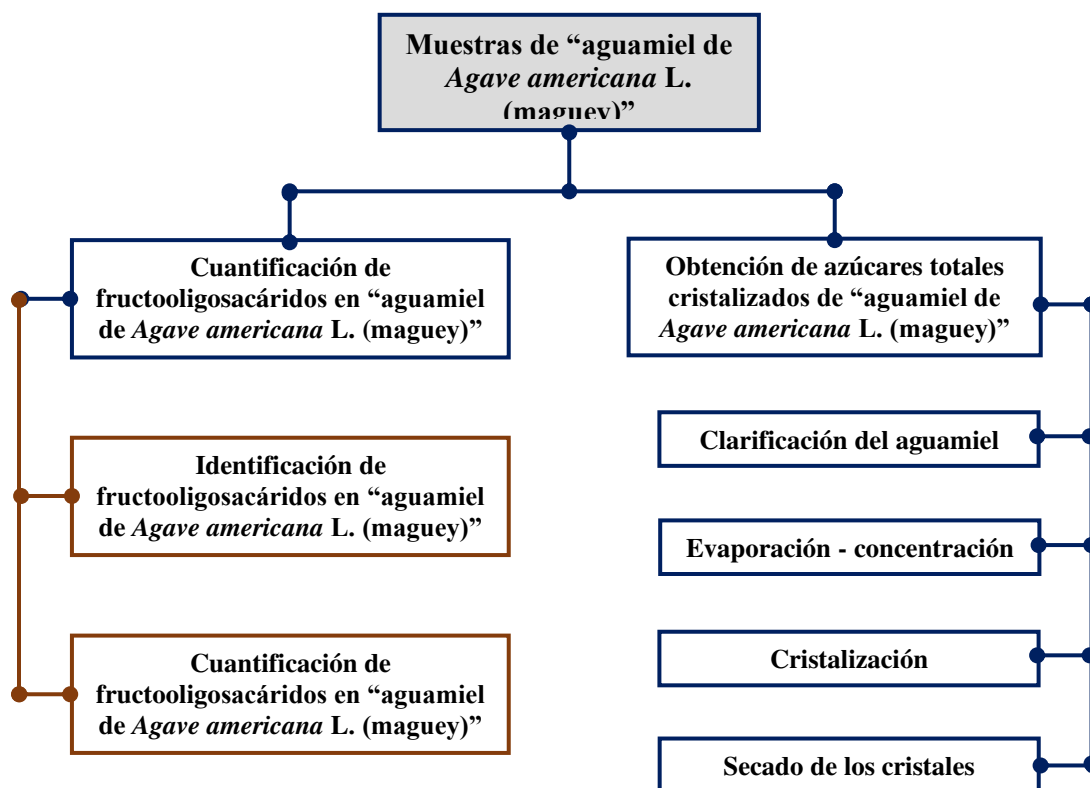


Figura 5. Esquema general de realización de las dos partes del estudio en “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

3.2 Unidad de estudio

Aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) recolectado del anexo de Pomacocha, “provincia de Vilcashuamán, departamento de Ayacucho”, que se encuentra a una altitud de 2500 msnm.

3.3 Tamaño de muestra

Para el presente trabajo se recolectaron muestras de aguamiel de 3 plantas de *Agave americana* L. (maguey).

Para la cuantificación de fructooligosacáridos se recolectaron muestras de aguamiel de las 3 plantas de *Agave americana* L. (maguey) en total 4,5 litros (1,5 litros de cada

planta). Para la obtención de azúcar cristalizado se recolectaron el aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) de las mismas 3 plantas en total 9 litros (3 litros de cada planta). Para el ensayo de ambas partes del trabajo se recolectaron aguamiel entre el séptimo y décimo día del periodo de extracción.

3.4 Recolección y transporte de muestras de “aguamiel”

El “aguamiel” de *Agave americana* L. (maguey) se recolectó del anexo de San Antonio de Pomacocha, centro poblado ubicado al noreste de la provincia de Vilcashuamán (Ayacucho).

Para la extracción de aguamiel se seleccionaron al azar tres plantas de *Agave americana* L. (maguey) de entre 8 a 10 años. La extracción y recolección de aguamiel se realizó aplicando el procedimiento establecido por Bautista (2006)⁵. En el lugar de recolección se realizaron ensayos como la determinación del pH y los grados brix (anexo 2). Para evitar la alteración de “aguamiel” durante la recolección y transporte se utilizó una cámara de refrigeración, manteniendo la muestra a menos de 0 °C desde la recolección hasta su llegada al laboratorio. El aguamiel se recolectó en envases estériles de plástico de 500 ml (anexo 2), una vez recolectada se colocó en la cámara fría y se transportó dentro de las 12 primeras horas al “laboratorio de Bromatología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM”. En el laboratorio con las muestras se procedió de dos maneras: una parte se utilizó para realizar los ensayos de pH, % de acidez, grados brix y azúcares reductores tanto para la parte de cuantificación de fructooligosacáridos y para la obtención de azúcares totales cristalizados; y la otra parte de la muestra se procesó tal como se indica en el punto 3.5.

Plantas de *Agave americana* L. (maguey)

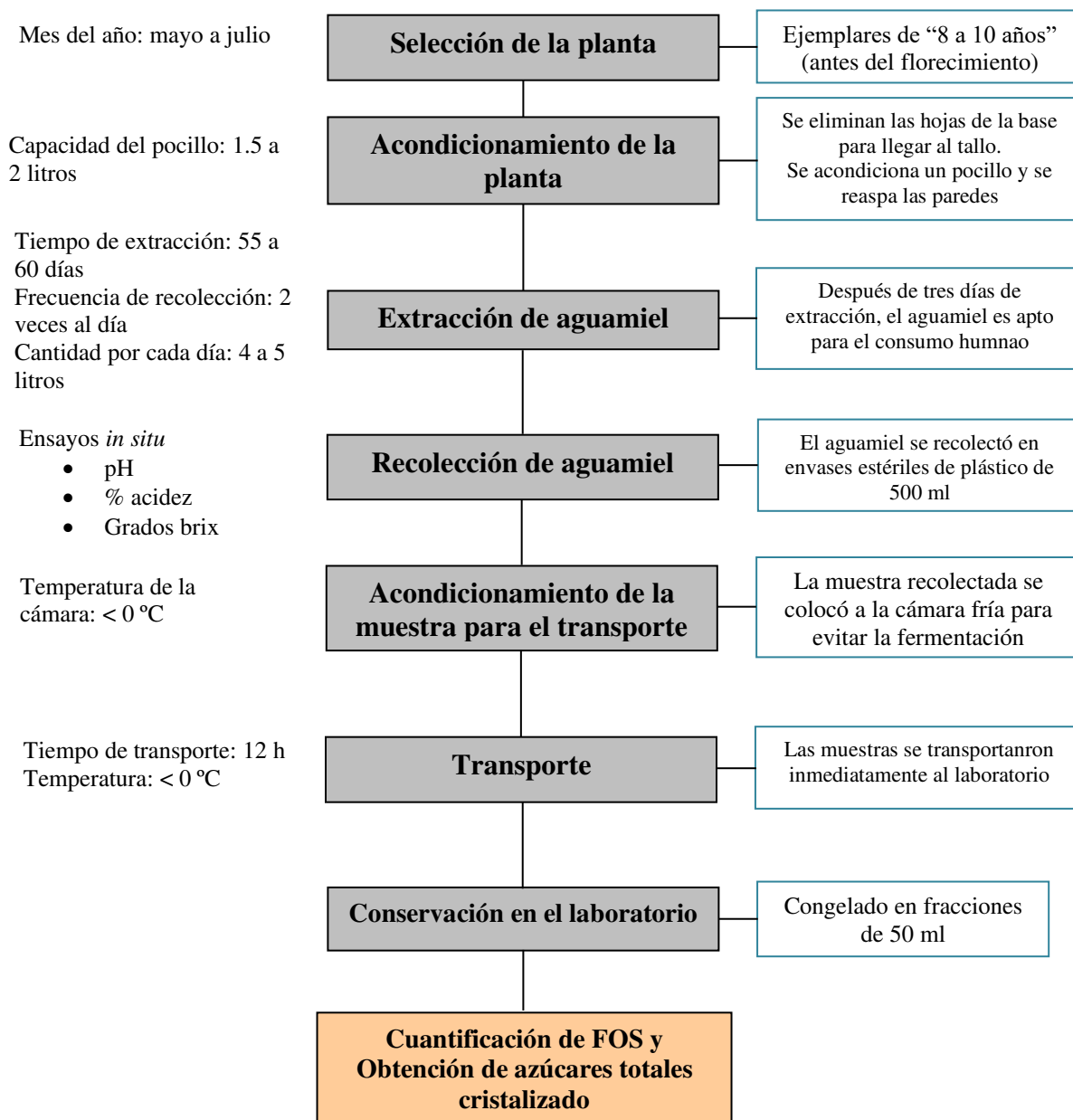


Figura 6. Flujo de obtención, recolección y transporte de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

3.5 Almacenamiento y conservación de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

La mayor parte de las muestras de aguamiel fueron acondicionadas para el almacenamiento y su posterior uso en los ensayos, esta consistió en la eliminación de

restos de tallo u otros residuos de vegetales utilizando un tamiz de malla N° 60, luego se fraccionaron en cantidades de 50 ml en bolsas de polietileno estériles con cierre zip cloc y fueron congelados a -20 °C en una refrigeradora. Para realizar cada ensayo se tomaron las fracciones congeladas según la cantidad requerida.

3.6 Cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) en aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Los ensayos de cuantificación de fructooligosacáridos en aguamiel de *Agave americana* L. (maguey), se llevaron a cabo en los laboratorios de “Bromatología” y Microbiología de la “Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM”. Previa a la cuantificación de FOS, se realizaron ensayos preliminares como la determinación de pH, acidez titulable, grados Brix, “azúcares reductores directos (ARD) y azúcares reductores totales (ART)”; Luego se realizó la identificación y cuantificación de FOS. Los métodos utilizados en esta etapa fueron los siguientes:

3.6.1 Determinación de pH

La determinación de pH tanto en la etapa de cuantificación de FOS y obtención de azúcar cristalizado fue a través del método potenciométrico⁴⁷, utilizando un potenciómetro de mesa (SI Analytics, Lab 850) previa calibración con buffer de pH 4, 7 y 10.

3.6.2 Acidez titulable

La cuantificación del porcentaje de acidez en el “aguamiel” se realizó a través del método volumétrico, esta consistió en la titulación directa de un volumen de “aguamiel” con una solución 0,1N de NaOH utilizando la fenolftaleína como indicador⁴⁸.

3.6.3 Azúcares reductores directos y totales

La cuantificación de los azúcares reductores directos (ARD) y azúcares reductores totales se realizó utilizando el “método volumétrico de Lane y Eynon⁴⁸. Para el caso de los ARD un volumen conocido de la solución de Fehling (A y B) se tituló con la muestra de “aguamiel” en ebullición como indicador el azul de metileno al 1%. Para el caso de ART, un volumen de “aguamiel” fue hidrolizado con HCl al 5% a 70 °C por 15 minutos.

3.6.4 Identificación y cuantificación de FOS

En esta etapa se realizó la identificación y cuantificación de fructooligosacáridos y también se realizó la cuantificación de glucosa.

Para esta etapa los métodos utilizados se indican a continuación:

3.6.4.1 Identificación de FOS en aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Método: Cromatografía en capa fina¹¹.

Procedimiento: El aguamiel se filtró con un filtro de celulosa de 0,45 µm, se concentró al 50% del volumen inicial en un rotavapor luego se aplicó 50 µl a las placas de silicagel 60 F₂₅₄ (MERCK®), se comparó con un estándar de fructooligosacáridos (SIGMA ALDRICH®) a 50 mg/ml. Las placas de cromatografía se desarrollaron en un sistema de solventes propanol: butanol: agua (11:4:6) y la presencia de fructooligosacáridos se detectó utilizando como revelador una mezcla de solución de anilina (4%v/v) y difenilamina (4%v/v) en acetona y ácido fosfórico (9,1% v/v). El revelador se aplicó a las placas y se dejó secar a 80 °C en tres tiempos (5, 10 y 15 minutos).

3.6.4.2 Cuantificación de FOS en aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Método: para la cuantificación de FOS en aguamiel se utilizó el método usado por (Montañez et al., 2011)⁶.

Procedimiento: en la muestra de “aguamiel” se determinó los “azúcares reductores directos (ARD), azúcares reductores totales (ART)” por el método de Lane y Eynon (A.O.A.C, 2012), “la glucosa (G)” se cuantificó utilizando el método enzimático de Trinder (1969), mientras tanto la “fructosa (F)” se determinó matemáticamente tal como sigue $F = \text{ARD} - G$. Por otro lado, el “aguamiel” se hidrolizó con la “enzima invertasa de *Sacharomyces cerevisiae* (1mg/ml)” a pH 4.5, a temperatura de 55 °C y un tiempo de 90 minutos; la hidrólisis enzimática se completó con hidrólisis química con una solución de HCl al 5% a una temperatura de 70 °C x 10 min, después de la hidrólisis se ajustó el pH cercano a 7 y se cuantificó los “azúcares reductores directos (ARD1), glucosa (G1) y fructosa (F1)”.

Para determinar los FOS se restó los ARD iniciales antes de la hidrólisis de los ARD1 después de la hidrólisis: “FOS = ARD1 – ARD”.

“La glucosa y la fructosa de los FOS se determinaron” restando los encontrados en la muestra sin hidrolizar de la muestra hidrolizada: $G_{\text{FOS}} = G1 - G$ y $F_{\text{FOS}} = F1 - F$. La

determinación del “grado de polimerización de los fructooligosacáridos (GP_{FOS})” se realizó aplicando la siguiente expresión: $GP_{FOS} = (F_{FOS} - G_{FOS}) / G_{FOS}$.

Finalmente, el “peso molecular promedio de los FOS se determinó multiplicando el GP_{FOS} por 162, número que representa el peso molecular de la fructosa o la glucosa” residual que forma parte del FOS correspondiente: $PM_{FOS} = GP_{FOS} \times 162$.

Todas las evaluaciones se realizaron por “triplicado” y los datos experimentales fueron analizados estadísticamente a través de ANOVA utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS centurión XVII.

3.6.5 Glucosa

Método: enzimático – espectrofotométrico⁴⁹.

Fundamento: se fundamenta en el tratamiento de la muestra con la enzima glucosa 6-oxidasa que es específico para la glucosa, genera una solución coloreada que es directamente proporcional a la cantidad de glucosa presente y la medición de la absorbancia se realiza en el espectrofotómetro a 505 nm.

Procedimiento: en las muestras de “aguamiel” de las tres plantas de *Agave americana* L. (maguey) se determinó la glucosa por triplicado, asimismo, en el hidrolizado enzimático – químico y en el azúcar cristalizado.

3.7 Obtención de azúcares totales cristalizado de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Los ensayos de obtención de azúcares totales cristalizados se llevaron a cabo en el “Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos”.

El aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) se recolectó del mismo lugar realizado para la cuantificación de fructooligosacáridos y teniendo las mismas consideraciones. Esta parte del trabajo comprendió las siguientes etapas:

3.7.1 Evaluación de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Previo al proceso de obtención de azúcares totales cristalizado, el aguamiel fue evaluado como parte de control de materia prima para todo proceso de transformación. Se evaluó para tener información de los parámetros que sirvieron como punto de partida.

Las evaluaciones realizadas fueron los siguientes:

3.7.1.1 Evaluación organoléptica de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

La evaluación organoléptica se realizó a través de “los órganos de los sentidos”, los atributos organolépticos evaluados fueron según la NTP 207.007:2015⁵⁰, tal como se indica (ver tabla 3).

Tabla 3. Evaluación organoléptica del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Nº	Características organolépticas
1	Color
2	Olor
3	Sabor
4	Aspecto

3.7.1.2 Evaluación fisicoquímica de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Las características fisicoquímicas y los métodos adoptados se indican en la tabla 4.

Tabla 4. Evaluación fisicoquímica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Nº	Características fisicoquímicas	Método
1	pH	Potenciométrico ⁴⁷
2	Humedad	Gravimétrico ⁵⁰
3	Grados brix	Refractométrico ⁵⁰
4	Azúcares reductores totales	Volumétrico de Lane y Eynon ⁵⁰

3.7.1.3 Evaluación microbiológica de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

La evaluación microbiológica se realizó según la “NTP 207.007.2015⁵⁰”, norma para bebidas azucaradas. Por la forma de obtención de aguamiel, se adicionó la investigación de *Salmonella sp.*

En esta etapa se realizó el recuento de los microorganismos alteradores y la investigación de patógenos tal como se indica en la tabla 5.

Tabla 5. Evaluación microbiológica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Microorganismos	Medios de cultivo
Recuento de aerobios mesófilos	Agar Plate Count
Coliformes	“Caldo lactosado verde bilis brillante 2% (CLVBB)”
<i>Escherichia coli</i>	Agar Eosina azul de metileno (EMB)
<i>Salmonella sp.</i>	Agar Agar Xilosa Lisina Tergitol 4 (XLT4)
Recuento combinado de “hongos filamentosos y levaduras”	“Agar Oxitetraciclina-glucosa (OGA)”.

3.7.2 Proceso de obtención de azúcar cristalizado de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) a nivel de laboratorio.

Método: para el proceso de obtención de azúcares totales cristalizado de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) se adaptó el método utilizado para la obtención de azúcar de la caña^{43,46}, asimismo, para los ensayos de control en cada etapa se consideró los métodos indicados por los dos autores.

El proceso de obtención de azúcar cristalizado de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey), comprendió las siguientes etapas:

3.7.2.1 Recepción de materia prima e insumos

En esta etapa se realizó la inspección visual y la verificación de la cantidad de “aguamiel” e insumos utilizados para la obtención del azúcar cristalizado.

3.7.2.2 Evaluación organoléptica de aguamiel

Etapas que consistió en la verificación de las características organolépticas de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey), etapa importante en todo proceso de obtención de productos alimentarios, es el punto de partida para el proceso de producción, ya que permite verificar la calidad de la materia prima (aguamiel).

3.7.2.3 Medida de volumen de aguamiel

Por el aspecto líquido de aguamiel se determinó el volumen con el cual se trabajó. Sirvió para determinar el rendimiento del azúcar, asimismo, para calcular la cantidad de sustancias clarificantes a utilizar.

3.7.2.4 Pesado de clarificantes (CaO y $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$)

Etapas donde se pesó el CaO y $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ usado como clarificantes de aguamiel de acuerdo con el diseño establecido y la planificación en donde se definió la cantidad de aguamiel a utilizar para los ensayos.

3.7.2.5 Clarificación

Etapas que consistió en la sedimentación de las partículas sólidas orgánicas en suspensión presentes en el aguamiel, utilizando como sustancias precipitantes a CaO y $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. En la primera parte del ensayo se realizó con CaO a diferentes concentraciones, una vez obtenida la concentración de CaO con la cual se generó la mayor sedimentación, el ensayo se realizó con la mezcla CaO y $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$.

3.7.2.6 Evaporación – Concentración

Etapas que consistió en la evaporación la mayor parte de agua del aguamiel aplicando el vacío hasta obtener un jarabe con alrededor de 70 grados brix, las variables controladas en esta etapa fueron la temperatura y el tiempo.

3.7.2.7 Concentración – Cristalización

Etapas que consistió en la evaporación completa de agua del jarabe hasta la cristalización, en esta etapa se controló la temperatura y el tiempo.

3.7.2.8 Secado

Etapas que consistió en la evaporación de residuos de agua de los cristales utilizando estufa con aire circulante (MEMMERT®). En esta etapa se controló el tiempo y la temperatura de secado.

3.7.3 Estandarización de las variables en las atapas de obtención de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Cada uno de los variables controlados en cada etapa de obtención de azúcar cristalizado de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) fueron adaptados de las técnicas de obtención del azúcar de la Caña de Chen (1991)⁴³ y Rein (2012)⁴⁶.

3.7.3.1 Acondicionamiento de la materia prima (aguamiel)

En esta etapa se eliminó restos de tallo de la planta en el aguamiel a través de la filtración con un tamiz de malla N° 60. Con el aguamiel filtrado se continuó las etapas siguientes del proceso de obtención de azúcar cristalizado.

Durante el proceso se realizaron los ensayos para determinar las mejores variables cada etapa de obtención del azúcar cristalizado. Las etapas y los variables controlados fueron tal como se indica en la tabla 6.

Tabla 6. Etapas y variables controlados en la obtención de azúcar cristalizado del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Etapa	Variables
Clarificación	Concentración de CaO y $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ y temperatura de clarificación
Evaporación	Temperatura y tiempo de evaporación
Concentración -cristalización	Temperatura y tiempo de cristalización
Secado	Temperatura y tiempo de secado

3.7.3.2 Clarificación de aguamiel

En esta etapa se realizó con la finalidad de separar del material orgánico e inorgánico disuelto y no disuelto presente en el aguamiel diferente a los azúcares. El ensayo de clarificación se realizó primero utilizando CaO, como variables independientes se consideraron a las concentraciones de CaO (0.08, 0.09, 0.10, 0.11, 0.12, 0.13 y 0.13 g/litro de aguamiel) y las temperaturas de calentamiento (75, 80, 85, 90 °C); como variable dependiente se consideró la altura del sedimento formado en un volumen de 15

ml de aguamiel en un tubo de 20 ml de 15 mm de diámetro; el tiempo de calentamiento fue establecido de 10 minutos para todos los casos. En total se realizó 28 ensayos por triplicado. En esta etapa se buscó la combinación que generó el sedimento con mayor altura en el tubo.

Una vez que se definió la combinación de concentración de CaO y la temperatura con mayor altura de sedimento, se completó el ensayo agregando a la concentración de CaO diferentes concentraciones de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ para poder obtener el mayor sedimento posible. Las concentraciones de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ con que se trabajaron fueron de 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.11 y 0.12 g/L de aguamiel con la temperatura en la que se obtuvo el mayor sedimento con CaO y el tiempo de calentamiento fue de 10 minutos. La concentración de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ se seleccionó evaluando el sedimento con mayor altura en milímetros. En esta etapa se definió las concentraciones de CaO y $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ y la temperatura con los cuales se obtuvieron la mayor altura de sedimento.

Para cada concentración de los clarificantes se evaluaron el pH, y para pasar a la siguiente etapa, al aguamiel clarificado se reguló el pH entre 6,4 y 6,6.

3.7.3.3 Evaporación - concentración

En esta etapa se eliminó la mayor parte de agua del aguamiel, se definió como variable independiente las temperaturas de evaporación (95, 100, 105 y 110 °C), la evaporación se realizó hasta obtener un jarabe de 70 ± 5 grados brix; la variable dependiente fue el tiempo de evaporación para las diferentes temperaturas. La forma como se estableció la mejor combinación de temperatura y tiempo fue a través de análisis sensorial del jarabe obtenido en cada tiempo y temperatura, al jarabe se evaluó los atributos de color, olor, sabor y aspecto; además se realizó la evaluación organoléptica, control de pH y grados brix.

3.7.3.4 Cristalización

Etapas que consistió en la segunda concentración del jarabe obtenido en la etapa anterior, esta etapa se realizó con la finalidad de obtener cristales instantáneos de azúcar de aguamiel. En la primera parte de esta etapa el jarabe obtenido en la etapa anterior se concentró hasta obtener un jarabe altamente concentrado de 96 a 97 grados brix (anexo 2), los ensayos de concentración se realizaron con 4 temperaturas (105, 110, 115 y 120 °C) con agitación a 60 r.p.m. La segunda parte de esta etapa consistió en la obtención de

los cristales en las mismas condiciones de la primera parte y luego se enfrió en cada caso a 40 °C para completar la cristalización. Los tiempos totales oscilaron entre 6 y 10 minutos.

A los cristales obtenidos se evaluaron las características organolépticas, sensoriales y la morfología, con estos ensayos se definieron las mejores variables de temperatura y tiempo de cristalización.

3.7.3.5 Secado

Los cristales de azúcar crudo obtenido fueron secados en una estufa con aire circulante (MEMMERT®) a diferentes temperaturas (105, 110, 115 y 120 °C) y tiempos (2, 5 y 10 minutos), en total se ensayaron 12 combinaciones de temperatura y tiempo de secado. La selección de la mejor combinación de temperatura y tiempo de secado se realizó a través de la evaluación organoléptica, sensorial y además se controló la humedad del azúcar en cada combinación. A la combinación con mayor puntuación dada por el panel de evaluación sensorial se evaluó las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas.

3.7.4 Análisis sensorial

Para la selección de los mejores valores de las variables en las etapas de estandarización del proceso de obtención de azúcar cristalizado se utilizó la evaluación sensorial, esta se utilizó en las etapas de concentración, cristalización, secado y el producto final.

Para la evaluación sensorial en las etapas indicadas se utilizó un panel de jueces seleccionados y entrenados. Para la conformación del panel primero se realizó la preselección de los jueces haciendo una entrevista para evaluar la salud, disponibilidad, interés y motivación; en esta etapa también se explicó el objetivo de la evaluación y los atributos a evaluar en las muestras. Luego se realizó la selección de los jueces evaluando la capacidad de diferenciación de los sabores básicos, detección y reconocimiento de los olores e identificación de los colores primarios; terminado la selección se les entrenó y comprobó el entrenamiento. Se consideró personas con edades de 20 a 40 años de ambos sexos. El panel de evaluación sensorial para todo el trabajo conformó 10 jueces de ambos sexos⁵¹.

El método utilizado para la evaluación sensorial fue de escala de categorías⁵¹, combinado con la escala nominal (calificación por puntos)⁵², “los atributos evaluados fueron el color, olor, sabor y aspecto”. Las escalas de categorías fueron de mayor a menor: excelente, muy bueno, bueno, regular y malo, a los cuales se les asignaron equivalencias en números de 5 a 1, donde 5 equivale a excelente y 1 equivale a malo. El trabajo de los jueces consistió en colocar un número dentro de la escala para cada atributo de la muestra evaluada utilizando un formato (anexo 1). Cada atributo sensorial se evaluó de manera independiente y los panelistas calificaron con los números de 1 a 5 según su criterio (ver tabla 7).

Tabla 7. Equivalencia de escala de categoría con calificación por puntos utilizado en la evaluación sensorial

Atributos sensoriales	Calificaciones	
	Escala de categoría	Escala nominal
Color Olor Sabor Aspecto	“Excelente”	“5”
	“Muy Bueno”	“4”
	“Bueno”	“3”
	“Regular”	“2”
	“Malo”	“1”

3.7.5 Evaluación del azúcar cristalizado obtenido de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

En esta etapa se realizó la evaluación final al producto, el que obtuvo la mayor puntuación por el panel de evaluación sensorial se definió como el producto final.

3.7.5.1 “Evaluación organoléptica”

La evaluación organoléptica se llevó a cabo adaptando las especificaciones indicadas para azúcar rubia de caña de la NTP 207.007.2015⁵⁰, las características organolépticas evaluadas fueron según la tabla 8.

Tabla 8. Evaluación organoléptica del azúcar cristalizado obtenido del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Nº	Características organolépticas
1	Color
2	Olor
3	Sabor
4	Aspecto

3.7.5.2 Evaluación sensorial

Se realizó como se ha descrito en la sección 3.7.4 y usando la tabla 7.

3.7.5.3 Evaluación fisicoquímica

Se realizaron las evaluaciones de los parámetros indicados en la tabla 9.

Tabla 9. Evaluación fisicoquímica del azúcar cristalizado obtenido del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey).

Nº	Parámetros	Métodos
1	Morfología de los cristales	Estereoscópico ⁴⁴
2	Tamaño de los cristales	Micrométrico ⁴⁴
3	Sólidos insolubles	Gravimétrico ⁵⁰
4	Humedad	Gravimétrico ⁴⁹
5	pH	Potenciométrico ⁴⁸
6	Cenizas	Calcinación directa ⁴⁹

3.7.5.4 Evaluación microbiológica

Para la evaluación microbiológica del azúcar cristalizado se tomó como referencia los requisitos de azúcar rubia doméstica de la Norma Técnica Peruana (NTP 207.007.2015)⁵⁰. Se realizaron las evaluaciones que se indican en la tabla 10.

Tabla 10. Evaluación microbiológica del azúcar cristalizado obtenido de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Microorganismos	Medios de cultivo
Aerobios Mesófilos	Agar Plate Count
Enterobacterias	Agar Mac Conkey
Mohos	Agar Oxitetraciclina glucosa (OGA).
Levaduras	Agar Oxitetraciclina glucosa (OGA).

Todos los ensayos en cada una de las etapas se realizaron por “triplicado” y los datos experimentales fueron analizados estadísticamente a través de ANOVA utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS centurión XVII.

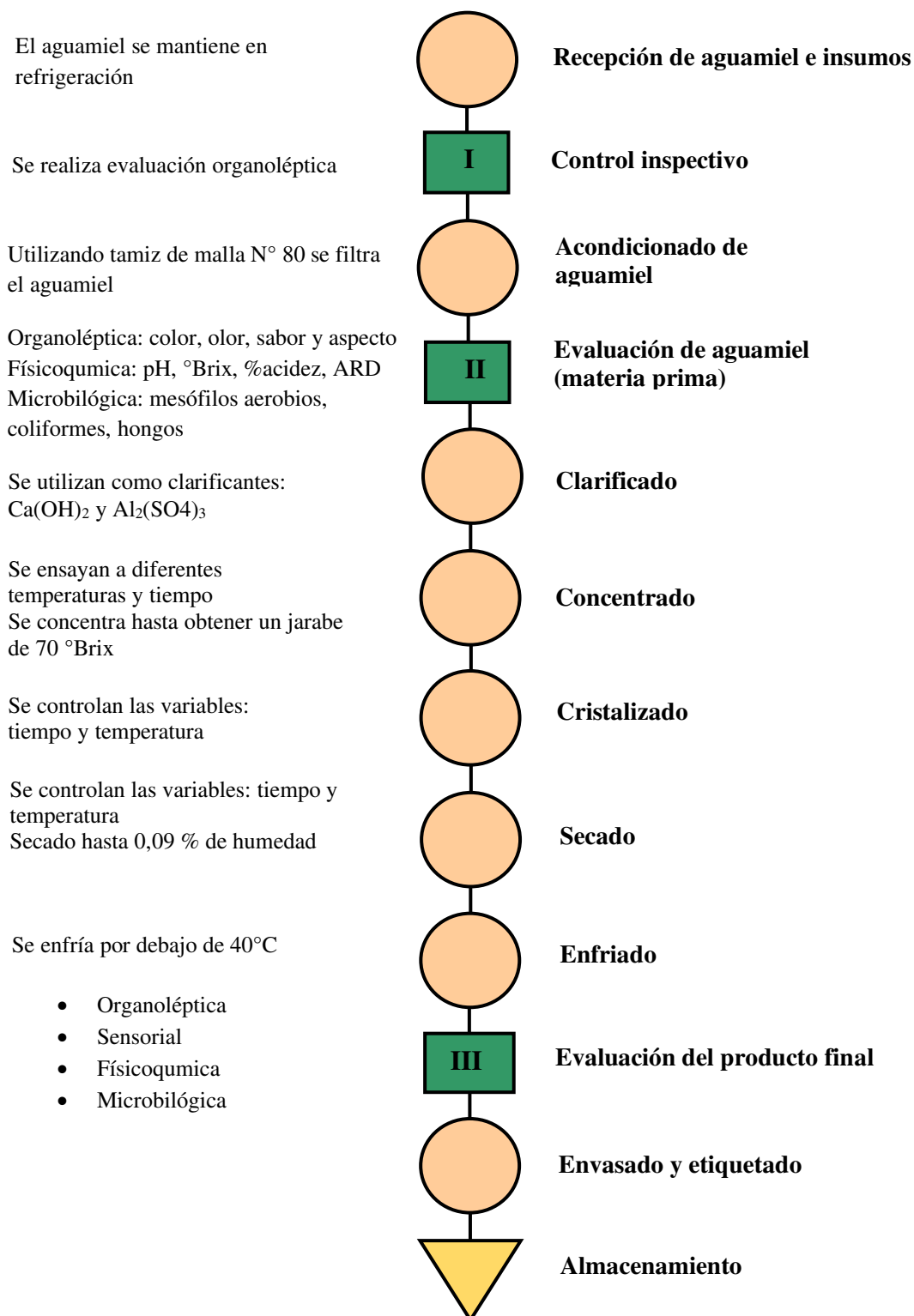


Figura 7. Flujograma del proceso de obtención de azúcar cristalizado de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1 Cuantificación de fructooligosacáridos (FOS) en “aguamiel” de *Agave americana* L. (maguey)

Tabla 11. Resultado de la evaluación cualitativa de azúcares en el “aguamiel” de *Agave americana* L. (maguey)

Azúcar	Reactivo	Resultado
Almidón	Lugol	Negativo
Azúcares reductores directos	Fehling	Positivo

Como ensayo preliminar a la cuantificación de fructooligosacáridos en aguamiel de *Agave americana* L. (maguey), se realizó la identificación a través de la cromatografía de capa fina comparando con un estándar de FOS, el resultado se muestra en la tabla 12.

Tabla12. Resultado de identificación de fructooligosacáridos en el “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” por cromatografía de capa fina

Características	Resultados
Sistema de solventes	Propanol:butanol:agua (11:4:6)
Revelador	Anilina (4% v/v) en acetona, difenilamina (4% v/v) en acetona y ácido fosfórico (9,1% v/v)
Rf (factor de retención)	0,67 \pm 0,10
Temperatura de revelado	80 °C
Tiempo de revelado	10 min
Color en capa fina	Rojo - azulado

Tabla 13. Resultado de evaluación fisicoquímica del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Descripción	Resultados
pH	7,05 ± 0,03
Humedad (g%)	85,82 ± 0,30
Acidez (g%)	0,21 ± 0,02
ARD (g%)	1,23 ± 0,06
ART (g%)	12,10 ± 0,10
Grados brix	13,70 ± 0,06

Tabla14. Contenido de Fructooligosacáridos y otros azúcares en muestra fresca del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

(g/100 ml de aguamiel)			
Azúcares	Monosacáridos libres	Glucosa	Fructosa
12,10 ± 0,10	1,23 ± 0,06	0,30 ± 0,01	0,93± 0,01

Fructooligosacáridos (g/100 ml de aguamiel)	GP	PM (g.mol ⁻¹)
10,89 ± 0,07	4,84 ± 0,09	784,08 ± 0,1

En la muestra fresca de “aguamiel” de *Agave americana* L. (maguey)”, la mayor parte de los azúcares presentes lo constituyen los FOS, por otra parte, se evidencia que la cantidad de glucosa y fructosa son muy bajas (0,30 g%, 0,93%).

4.2 Obtención de azúcares totales cristalizado de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

4.2.1 Evaluación de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Los resultados que corresponden a la evaluación de “aguamiel” de *Agave americana* L. (maguey), previo a la obtención de azúcares totales cristalizados se muestran en las tablas de 15 a 17.

Tabla 15. Resultado de evaluación organoléptica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” previo al proceso de obtención de azúcares

Características organolépticas	Resultados
Color	Blanco amarillento
Olor	Característico
Sabor	Dulce
Aspecto	Líquido homogéneo

Tabla 16. Resultado de evaluación fisicoquímica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” previo al proceso de obtención de azúcares

Características	Resultados
Humedad (g%)	85,62 \pm 0,28
pH	7,08 \pm 0,03
Grados Brix	13,70 \pm 0,06
ART (g%)	12,08 \pm 0,10

Tabla 17. Resultado de evaluación microbiológica del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” previo al proceso de obtención de azúcares

Microorganismos	Resultados
Aerobios mesófilos (UFC/ml)	5 x 10 ²
Coliformes	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	Ausente
<i>Salmonella sp.</i> (en 25 ml de muestra)	Ausente
Hongos y Levaduras (UFC/ml)	8 x 10 ²

Se evidencia que hay ausencia de bacterias patógenas

4.2.2 Estandarización de los variables en las etapas de obtención de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

En esta parte se muestran los resultados de los ensayos de estandarización de las variables en la obtención de azúcar cristalizado. Las etapas en las cuales se estandarizaron las variables fueron la clarificación, concentración, cristalización y secado.

a) Clarificación de “aguamiel” de *Agave americana* L. (maguey)

Tabla 18. Resultado de los ensayos de clarificación del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” con CaO a diferentes temperaturas y tiempo de 10 minutos

CaO (g/L)	Altura de sedimento (mm)				
	75 °C	80 °C	85 °C	90 °C	
0,08	1,03 ± 0,06 ^a	1,17 ± 0,06 ^a	2,06 ± 0,12 ^l	1,47 ± 0,06 ^r	<0,0001
0,09	3,07 ± 0,06 ^b	3,33 ± 0,06 ^h	4,13 ± 0,12 ^m	3,07 ± 0,06 ^b	<0,0001
0,10	5,03 ± 0,06 ^c	5,13 ± 0,06 ^c	6,17 ± 0,06 ⁿ	4,47 ± 0,06 ^s	<0,0001
0,11	7,10 ± 0,10 ^d	7,43 ± 0,06 ⁱ	8,23 ± 0,06 ^o	6,53 ± 0,06 ^t	<0,0001
0,12	9,03 ± 0,06 ^e	9,23 ± 0,06 ^j	10,17 ± 0,06 ^p	7,87 ± 0,12 ^u	<0,0001
0,13	8,03 ± 0,06 ^f	8,07 ± 0,06 ^f	8,53 ± 0,06 ^q	6,53 ± 0,06 ^t	<0,0001
0,14	6,03 ± 0,06 ^g	7,13 ± 0,15 ^k	7,13 ± 0,06 ^k	5,43 ± 0,12 ^v	<0,0001
Valor P < 0,05 hay diferencia significativa	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	Efecto de interacción <0,0001

Las medias (n=3) con las letras diferentes en los superíndices indican la existencia de las diferencias significativas en columna y fila (p<0,05) según la prueba de Tukey.

En la tabla 18 se evidencia que, utilizando diferentes concentraciones de CaO realizando el calentamiento de aguamiel a diferentes temperaturas y manteniendo el tiempo de 10 minutos para todas las combinaciones, se obtuvieron sedimentos con diferencias significativas y con efecto de interacción significativa. Como se observa, la mayor altura de sedimento (10,17 ± 0,06 mm) se obtuvo a 85 °C para una concentración de 0,12 g de CaO por cada litro de aguamiel. En la figura 8 se muestra gráficamente que, a concentración 0,12 g/L de CaO se logra obtener la mayor altura sedimento, a concentraciones mayores el sedimento disminuye.

Tabla 19. Resultados de ensayos de clarificación del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” con $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ + CaO (0,12 g/L) a 85 °C y tiempo de 10 minutos

Concentración de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (g/L)	Altura de sedimento (mm)
0,07	4,17±0,06 ^f
0,08	5,04±0,06 ^e
0,09	6,10±0,10 ^d
0,10	8,07±0,06 ^c
0,11	12,07±0,06 ^a
0,12	10,00±0,01 ^b
0,13	8,03±0,06 ^c
Valor P (<0,05 es significativo)	<0,0001

Las medias (n=3) con las letras diferentes en los superíndices indican la existencia de las diferencias significativas (p<0,05) según la prueba de Tukey.

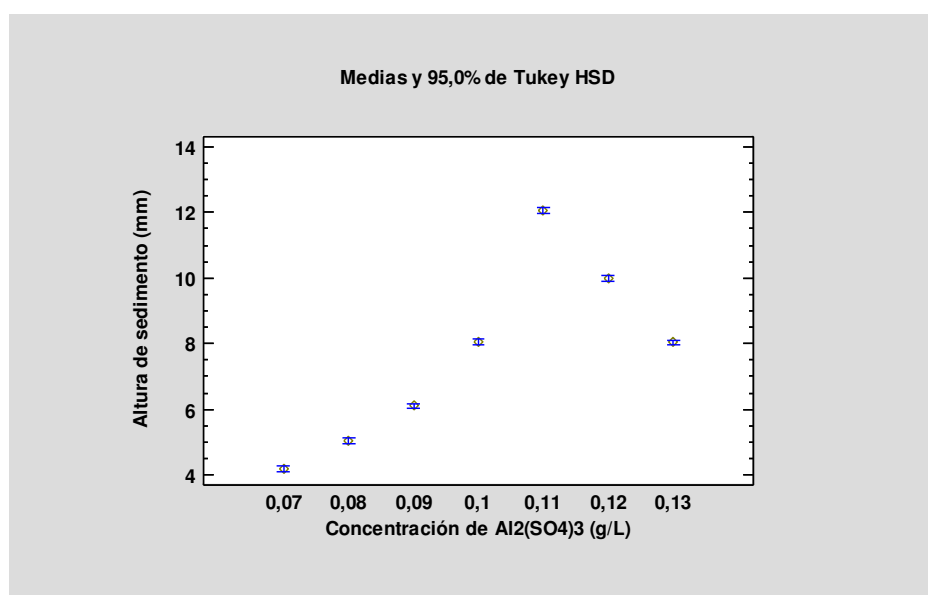


Figura 8. Representación gráfica de variación de sedimento formado usando diferentes concentraciones de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ con CaO a 0,12 g por cada litro de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Como se observa en la figura 8, cuando se utiliza la mezcla de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ con CaO (0,12 g/L de aguamiel), se obtienen mayor formación de sedimento a una concentración de 0,11 g $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ por litro de aguamiel, lo cual significa que existe mayor clarificación.

Tabla 20. Características finales del aguamiel clarificado usando la mezcla de agentes clarificantes el CaO y $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$

Características	Resultados
Color	Amarillo claro
Olor	Característico
Sabor	Dulce
pH	$7,30 \pm 0,06$
Grados Brix	$14 \pm 0,29$

b) Evaporación – concentración

En esta etapa de obtención de azúcar cristalizado las variables ensayadas y controladas fueron temperatura y el tiempo de evaporación. La selección de la mejor combinación fue a través de la evaluación sensorial. Los resultados se muestran en las tablas 21 al 24.

Tabla 21. Resultado de ensayos de evaporación de 200 mL del “aguamiel *Agave americana* L. (maguey)” para obtener un jarabe de 70 grados brix

Temperatura (°C)	Tiempo de Evaporación (min)	Presión de evaporación
95	$65 \pm 3,2^a$	0,45 bar
100	$57 \pm 2,0^b$	
105	$44 \pm 3,1^c$	
110	$30 \pm 2,5^d$	

Las medias (n=3) con las letras diferentes en los superíndices indican la existencia de las diferencias significativas ($p < 0,05$) según la prueba de Tukey.

En la tabla 21 se muestra que, a mayor temperatura, el tiempo de evaporación es menor, sin embargo, con la tabla 22 se demuestra que los puntajes de evaluación de los atributos disminuyeron a medida que aumentó la temperatura.

Tabla 22. Resultados de evaluación sensorial de los jarabes del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” obtenido por evaporación a diferentes temperaturas

Temperatura (°C)	Color	Olor	Sabor	Aspecto
95	3,7 ± 0,67 ^{ab}	4,1 ± 0,57 ^{ab}	4,3 ± 0,48 ^{ab}	3,7 ± 0,48 ^{ab}
100	4,1 ± 0,57 ^{ab}	4,0 ± 0,47 ^{ab}	4,6 ± 0,52 ^a	3,8 ± 0,42 ^{ab}
105	4,4 ± 0,52 ^a	4,5 ± 0,53 ^a	4,7 ± 0,48 ^a	4,2 ± 0,42 ^a
110	3,5 ± 0,71 ^b	3,6 ± 0,51 ^b	3,8 ± 0,42 ^b	3,6 ± 0,52 ^b
Valor P (<0,05 es significativo)	0,0119	0,0052	0,0007	0,0335

Las medias (n=10) con las letras diferentes en los superíndices indican la existencia de las diferencias significativas en columna (p<0,05) según la prueba de Tukey.

La evaluación sensorial de cada combinación muestra que, la combinación de temperatura 105 °C y el tiempo de 44 minutos muestran la mayor calificación por el panel de evaluación sensorial. El atributo que obtuvo la menor calificación en esta combinación fue el aspecto, sin embargo, todas las puntuaciones muestran por encima de la escala de calificación buena.

Tabla 23. Resultados de evaluación organoléptica de los jarabes del “aguamiel *Agave americana* L. (maguey)” obtenidos por evaporación a diferentes temperaturas

Temperatura (°C)	Color	Olor	Sabor	Aspecto
95	Ámbar claro	Característico	Dulce	Líquido viscoso
100	Ámbar claro	Característico	Dulce	Líquido viscoso
105	Ámbar claro	Característico	Dulce	Líquido viscoso
110	Ámbar oscuro	Caramelo	Dulce	Líquido viscoso

Tabla 24. Características finales del jarabe de “aguamiel del *Agave americana* L. (maguey)” con mayor puntuación dada por el panel de evaluación sensorial

Características	Resultados
Color	Ámbar claro
Olor	Característico
Sabor	Dulce
Aspecto	Líquido viscoso
pH	6,78 ± 0,02
Grados Brix	70 ± 3,25

c) Cristalización

El jarabe seleccionado en la etapa anterior se concentró hasta la obtención de cristales aplicando un ligero vacío, se controlaron los tiempos y temperatura. Los resultados de esta etapa se muestran en las tablas 25 al 28.

Tabla 25. Resultados de ensayos de cristalización de los azúcares del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Temperatura (°C)	Tiempo de cristalización (min)	Presión
105	30 ± 2,2 ^a	0,45 bar
110	27 ± 1,0 ^b	
115	20 ± 2,1 ^c	
120	15 ± 1,5 ^d	
Valor P (<0,05 es significativo)		<0,0012

Las medias (n=3) con las letras diferentes en los superíndices indican la existencia de las diferencias significativas (p<0,05) según la prueba de Tukey.

En la tabla 25 se evidencia que a mayor temperatura el tiempo de cristalización es menor. Para cada temperatura el tiempo de cristalización es diferente, pero las altas temperaturas influyen en el cambio de las características organolépticas.

Tabla 26. Resultados de la evaluación sensorial de los cristales de azúcar del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” obtenidos en la cristalización a diferentes temperaturas

Temperatura (°C)	Calificación de los atributos sensoriales			
	Color	Olor	Sabor	Aspecto
105	4,2±0,42 ^{ab}	4,3±0,48 ^{ab}	4,4±0,52 ^a	3,7±0,48 ^a
110	4,1±0,32 ^{ab}	4,2±0,42 ^{ab}	4,4±0,52 ^a	3,9±0,32 ^a
115	4,3±0,48 ^a	4,4±0,52 ^a	4,5±0,53 ^a	3,9±0,32 ^a
120	3,6±0,70 ^b	3,8±0,42 ^b	3,8±0,42 ^b	3,8±0,42 ^a
Valor P (<0,05 es significativo)	0,0170	0,0335	0,0127	0,692

Las medias (n=10) con las letras diferentes en los superíndices indican la existencia de las diferencias significativas en la columna (valor P<0,05) según la prueba de Tukey.

En tabla 26 muestra que, los puntajes para las diferentes temperaturas tienen diferencias significativas ($p < 0,05$). Se evidencia que, para los atributos de color y sabor a temperatura de 115 °C se obtiene la mayor calificación; mientras tanto para el aspecto las puntuaciones no tienen diferencias significativas.

Tabla 27. Resultados de la evaluación organoléptica de cristales de azúcar del “aguamiel *Agave americana* L. (maguey)” obtenidos por cristalización a diferentes temperaturas

Temperatura (°C)	Atributos			
	Color	Olor	Sabor	Aspecto
105	Ámbar	Característico	Dulce	Sólido cristalino
110	Ámbar	Característico	Dulce	Sólido cristalino
115	Ámbar	Característico	Dulce	Sólido cristalino
120	Ámbar oscuro	Caramelo	Dulce - amargo	Sólido cristalino

Tabla 28. Tamaño y morfología de los cristales de azúcar de “aguamiel del *Agave americana* L. (maguey)” obtenidos

T (°C)	Tamaño de cristales (μm)	Morfología
105	$903 \pm 6,65^a$	Formas cúbicas
110	$905 \pm 5,0^a$	Formas cúbicas
115	$701,67 \pm 8,89^b$	Formas cúbicas con presencia de cristales amorfas
120	$554 \pm 7,73^c$	Amorfas con presencia de cristales cúbicas
Valor ($P < 0,05$ es significativo)		< 0.0001

Las medias ($n=3$) con las letras diferentes en los superíndices indican la existencia de las diferencias significativas en tamaños de los cristales ($p < 0,05$) según la prueba de Tukey.

La tabla 28 evidencia que, a menor temperatura los cristales tienen formas cúbicas, mientras tanto, a medida que aumenta la temperatura aumenta las formas amorfas.

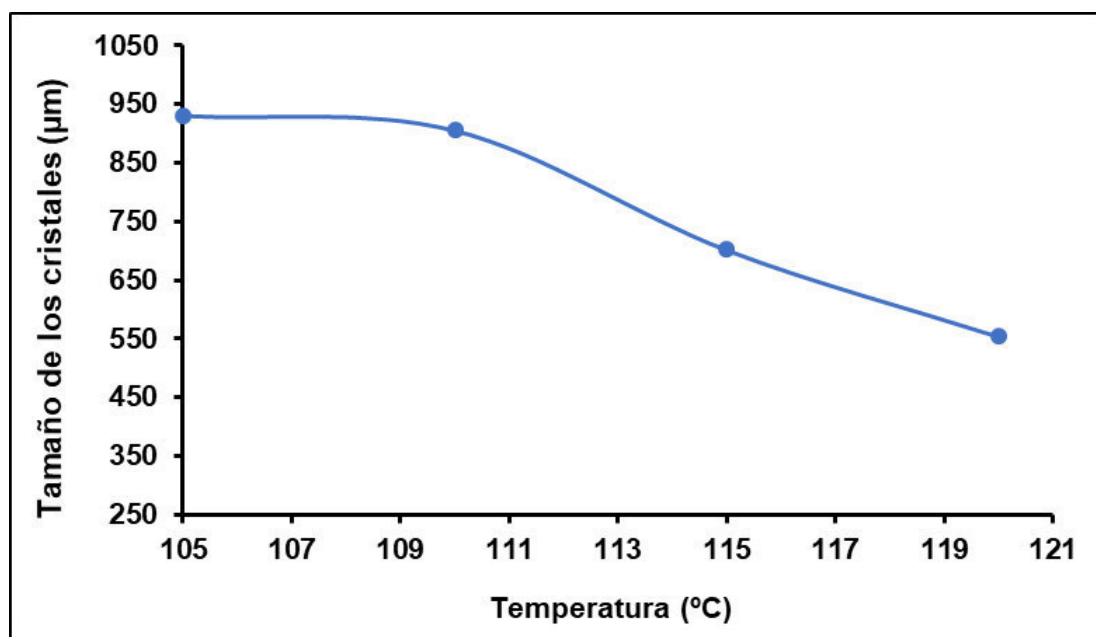


Figura 9. Representación gráfica de variación del tamaño de los cristales de acuerdo a la temperatura de cristalización

Como se evidencia en la figura 9 a temperaturas bajas de cristalizado el tamaño de los cristales son mayores y a medida que aumenta la temperatura el tamaño de los cristales disminuye.

d) Secado de azúcares totales cristalizados de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

En esta etapa del proceso de obtención del azúcar cristalizado se realizó los ensayos para encontrar la mejor combinación de temperatura y tiempo de secado que no genera cambios en los cristales, los controles de las variables fueron a través de la evaluación de la humedad en cada una de las combinaciones. Los resultados de esta etapa de estudio se muestran en las tablas 29 y 30.

Tabla 29. Variación de humedad de los cristales de azúcar del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” según la temperatura y el tiempo de secado

Temperatura de secado (°C)	Humedad (g%)			
	0 min	3 min	7 min	10 min
105	2,6 ± 0,10	1,50 ± 0,01 ^a	0,82 ± 0,02 ^a	0,40 ± 0,01 ^a
110	2,6 ± 0,10	1,32 ± 0,02 ^b	0,63 ± 0,02 ^b	0,28 ± 0,02 ^a
115	2,6 ± 0,10	0,90 ± 0,09 ^c	0,18 ± 0,02 ^c	0,09 ± 0,01 ^a
120	2,6 ± 0,10	0,52 ± 0,04 ^d	0,12 ± 0,01 ^d	0,09 ± 0,01 ^a
Valor P (<0,05 es significativo)	----	<0,0001	0,0021	0,3193

Las medias (n=3) con las letras diferentes en los superíndices indican la existencia de las diferencias significativas en columna (p<0,05) según la prueba de Tukey.

En la tabla 29 se evidencia que a mayor temperatura el tiempo de secado es menor. Para los tiempos 3 y 7 min existen diferencias significativas para cada temperatura, mientras tanto, para el tiempo 10 minutos no existe diferencias significativas (p<0,05) para las temperaturas.

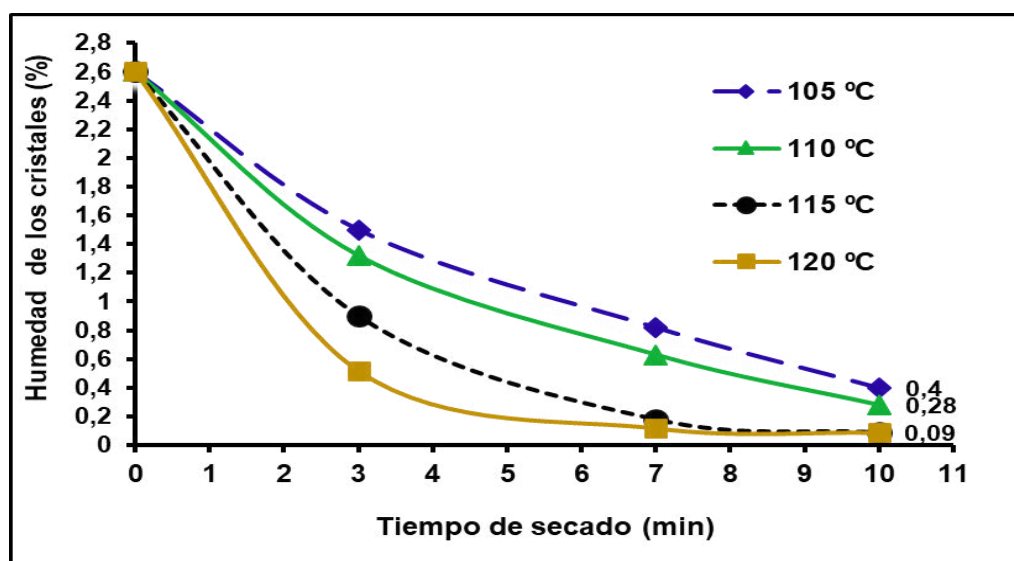


Figura 10. Representación gráfica de variación de la humedad según la temperatura y tiempo de secado de los cristales

La figura 10 muestra que, para la temperatura de 120 °C el porcentaje de humedad cae bruscamente, además se evidencia que, a partir de los 7 minutos de secado de los cristales, la humedad permanece casi constante para las dos temperaturas (115, 120 °C).

Tabla 30. Resultado de los sólidos insolubles en los cristales del azúcar de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” según las temperaturas y tiempos de secado

Temperatura de secado (°C)	Sólidos insolubles (g/Kg)		
	3 min	7 min	10 min
105	0,16 ± 0,01 ^c	0,16 ± 0,02 ^c	0,16 ± 0,01 ^d
110	0,16 ± 0,02 ^c	0,17 ± 0,01 ^c	0,18 ± 0,01 ^c
115	0,17 ± 0,01 ^b	0,18 ± 0,01 ^b	0,21 ± 0,01 ^b
120	0,19 ± 0,01 ^a	0,21 ± 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^a
Valor P (<0,05 es significativo)	0,0008	<0,0001	<0,0001

Las medias (n=3) con las letras diferentes en los superíndices indican la existencia de las diferencias significativas en columna (p<0,05) según la prueba de Tukey.

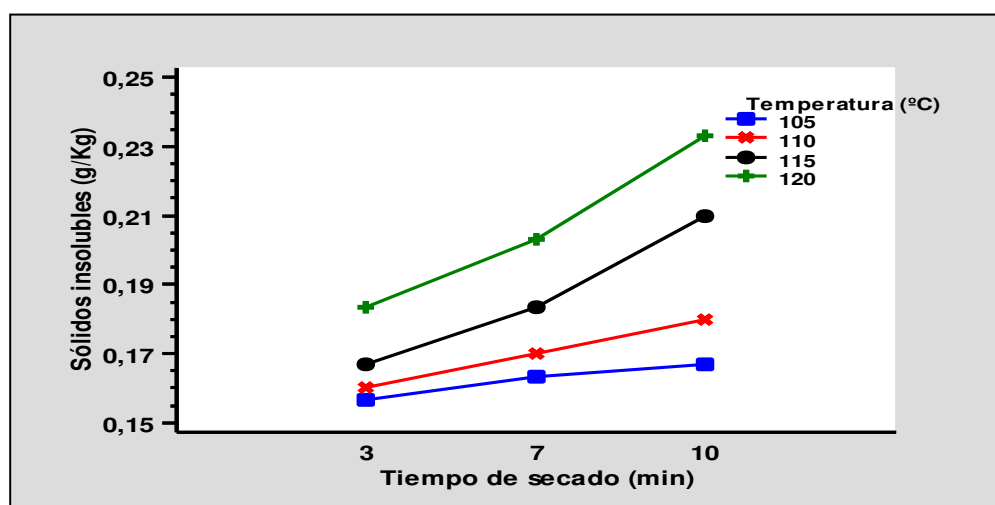


Figura 11. Representación gráfica de la variación de los sólidos insolubles en los cristales según la temperatura y tiempo de secado

Como se evidencia en la figura 11, existe un ligero aumento de los sólidos insolubles a medida que aumenta la temperatura y el tiempo.

Tabla 31. Características del azúcar cristalizado de “aguamiel del *Agave americana* L. (maguey)” seleccionado según el mayor puntaje del panel de evaluación sensorial

Características	Resultados
Color	Ámbar
Olor	Característico
Sabor	Dulce
Aspecto	Sólido cristalino
Tamaño de cristales	$701,67 \pm 15,89$
Forma de cristales	Formas cúbicas con presencia de cristales amorfas
Temperatura de cristalización	115 °C
Tiempo de secado	10 minutos
Temperatura de secado	115 °C
Sólidos insolubles (g/Kg)	$0,21 \pm 0,01$
Rendimiento	$12,45 \pm 0,21\%$

4.2.3 Evaluación final del azúcar cristalizado seleccionado de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

En esta etapa del estudio se realizó la evaluación al azúcar cristalizado obtenido de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey). Los resultados se muestran de la tabla 32 al 36.

Tabla 32. Resultado de la evaluación organoléptica del azúcar cristalizado seleccionado de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Características organolépticas	Resultados
Color	Pardo
Olor	Característico
Sabor	Dulce
Aspecto	Cristales granulado-cúbicos-amorfos

Tabla 33. Resultado de la evaluación sensorial del azúcar cristalizado seleccionado de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Panelista	Calificación			
	Color	Olor	Sabor	Aspecto
1	4	4	4	4
2	4	5	5	4
3	4	4	5	4
4	4	5	5	4
5	4	4	4	4
6	4	4	4	3
7	5	5	5	4
8	4	4	5	4
9	4	4	4	4
10	4	4	4	4
$\bar{X} \pm D.E.$	$4,1 \pm 0,32^b$	$4,3 \pm 0,48^a$	$4,4 \pm 0,52^a$	$3,9 \pm 0,32_c$

Las medias (n=10) con las letras diferentes en los superíndices indican la existencia de las diferencias significativas en columna ($p < 0,05$) según la prueba de Tukey.

La tabla 33 muestra que, los atributos olor y sabor obtuvieron la mayor puntuación y no existe diferencias significativas entre ellos, mientras tanto, el atributo que obtuvo la menor calificación fue el aspecto.

Tabla 34. Resultados de la evaluación físicoquímica del azúcar cristalizado seleccionado del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Características	Resultados
Humedad (g%)	$0,09 \pm 0,02$
Cenizas (g%)	$0,42 \pm 0,01$
ARD (g%)	$43,42 \pm 0,02$
ART (g%)	$99,30 \pm 0,42$
Acidez (g%)	$0,10 \pm 0,01$
pH	$6,90 \pm 0,02$

Tabla 35. Resultados de cuantificación de FOS y monosacáridos en el azúcar cristalizado seleccionado del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)

Azúcares	g/100g	% con respecto al total de azúcares
Fructooligosacáridos	55,68 ± 0,12	56,07 ± 0,09
Glucosa	4,22 ± 0,02	4,25 ± 0,03
Fructosa	39,4 ± 0,08	39,68 ± 0,07

Tabla 36. Resultados de la evaluación microbiológica del azúcar cristalizado del “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”

Microorganismos	Resultados
Aerobios mesófilos (UFC/g)	< 10
Mohos (UFC/g)	< 10
Levaduras (UFC/g)	< 10
Enterobacterias	Ausente

CAPÍTULO V. DISCUSIONES

Como consecuencias de alta prevalencia de cáncer al colon, a lo largo de los años se han planteado diferentes estudios para reducir su incidencia. Se ha identificado que una de las causas está relacionada con alteraciones en la microbiota intestinal buena del colon. En tal sentido, se han realizado estudios de especies vegetales con contenido de azúcares no digeribles con capacidad de estimular el desarrollo de la microbiota buena del colon¹. Por otro lado, en el tratamiento de diabetes se ha evidenciado el problema para la preparación de los alimentos dulces, para esto se utilizan edulcorantes sintéticos, los cuales no tienen buena aceptación por los pacientes, por lo que, es necesario la búsqueda de nuevos edulcorantes que tengan menos o ningún aporte glucémico, como lo son los fructooligosacáridos (FOS)².

Debido a sus propiedades beneficiosas, a lo largo de los últimos años se han realizado la búsqueda de nuevas fuentes alimenticias de FOS, es así que, existen trabajos en especies del género *Agave*, de estos destacan trabajos realizados en *Agave tequilana* Weber, *Agave atrovirens*, *Agave pulquero*, entre otros^{14,15,16}. No se han realizado trabajos de cuantificación de FOS en *Agave americana* L.

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de cuantificar los fructooligosacáridos en el “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)”, asimismo, teniendo referencia de su alto contenido de azúcares, obtener azúcares totales cristalizados. El *Agave americana* L, es una de las especies del género *Agave* que crece mayormente en forma natural en Perú⁵, por lo que, este trabajo servirá para su aprovechamiento integral de manera sostenible en la obtención de azúcares cristalizados para su uso como edulcorante con menor aporte calórico y a la vez con propiedades funcionales.

Tanto para la etapa de determinación de fructooligosacáridos (FOS) y como para la obtención de azúcares totales cristalizado, la conservación del aguamiel fue determinante, debido a que, es un producto altamente inestable, se altera fácilmente por un proceso de fermentación espontánea. Según los estudios de campo la alteración ocurre dentro de las tres primeras horas después de la extracción. Esta inestabilidad se debe, además de su alto contenido de azúcar y al pH casi neutro (7,05) que tiene el aguamiel⁵.

Cualitativamente se determinó algunos azúcares presentes en el aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) utilizando reactivos específicos, los cuales fueron punto de partida para el estudio de FOS y otros azúcares. Se evidenció que las reacciones fueron positivas para azúcares reductores directos y negativo para el almidón (tabla 11). El siguiente paso del estudio cualitativo fue la identificación de FOS, se separó y se identificó a través de la cromatografía de capa fina en placas de silicagel 60 F₂₅₄ (MERCK®); la cromatografía permitió separar, purificar e identificar los FOS utilizando anilina/difenilamina/acetona/ácido fosfórico como revelador con calentamiento de la placa a 80 °C tal como se reporta en otros trabajos¹¹. Como se evidencia en la tabla 12, existe una ligera variación en el sistema de solventes, la mejor separación se logró aumentando la proporción de agua, el tiempo de revelado fue de 10 minutos, el color se observó rojo azulado característico para oligofructanos¹¹. La detección de FOS fue necesaria como un estudio preliminar para tener referencia de su presencia en el aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) a pesar de que existen trabajos en el género *Agave* que reportan el contenido de FOS en todas las especies estudiadas⁶. Para la determinación de FOS se utilizó el método de Wight y Niéper (1983) optimizado por Montañez (2011)⁶, a este método se realizó ciertas modificaciones como la cuantificación de los azúcares reductores por el método de Lane y Eynon. En la tabla 14 se muestra el contenido de FOS (10,89%) en el aguamiel de *Agave americana* L. (maguey); como se evidencia es el componente mayoritario (90%) de los azúcares totales (12,10%) presentes. Este valor permite plantear que el aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) es una fuente muy importante de FOS, por lo que, constituye un potencial alimento funcional para la prevención de muchas enfermedades a nivel del colon y a nivel sistémico⁹. La cantidad de FOS encontrada es similar a los fructanos reportados (97,3%) del total de los azúcares cuantificados en las cabezas de *Agave tequilana* de 6 años utilizando métodos instrumentales¹⁴; a pesar de que se realizó en otra especie y en otro tipo de muestra, el valor es comparable al encontrado en este trabajo.

Por otro lado, el contenido de FOS es mucho mayor a las cantidades reportadas en dos trabajos en la especie *Agave atrovirens* Karw; en uno de ellos fue de 38 a 42% del total

de contenido de azúcares¹⁶ y el otro fue 38,61% en producto seco obtenido de las hojas *Agave atrovirens* Karw²¹.

Por la naturaleza líquida del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey), se esperó que los fructooligosacáridos presentes tengan cadenas cortas porque son los más solubles en agua⁹. El grado de polimerización (GP) promedio de los FOS de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” fue de 4,04, lo cual se muestra en la tabla 14; aquí se evidencia los resultados esperados, además se puede observar que se encuentra dentro de los valores definidos (3 a 5) para estos azúcares³¹. Comparando con trabajos similares en el género *Agave*, la cadena es corta que los oligosacáridos de *Agave sisalana* (GP 5 a 13), cabe destacar que la cadena larga en esta especie se debe a que la determinación de los oligosacáridos se realizó en los tallos¹⁰. También es de menor tamaño comparado con el valor reportado en *Agave tequilana* Azul, donde se cuantificó fructooligosacáridos en las hojas y los GP variaron de 6,33 a 6,60¹⁴. En otro trabajo realizado sobre la estructura molecular de los fructanos en las hojas *Agave tequilana* Weber var. Azul, también reportaron valores GP de 3 a 93³, aquí podemos destacar que el rango es muy amplio.

Dentro de los monosacáridos libres (tabla 14), el aguamiel de *Agave americana* L. (maguey), contiene muy baja cantidad de glucosa (0,28%) y fructosa (0,93%). Este valor es similar a la cantidad reportada en tallos de *Agave tequilana* que oscila entre 0,49 a 0,58% para la glucosa y 0,79% para la fructosa¹⁴. En otro trabajo realizado en las hojas de *Agave tequilana*, también se reportó contenidos bajos de glucosa (0,99 a 3,93%). La variación en el contenido de los azúcares simples y FOS en el género *Agave* está relacionado también con la edad de las plantas; en las plantas de 2 años predominan los azúcares simples como la glucosa y la fructosa, mientras en las plantas mayores de 4 años predominan los oligofructanos¹⁴.

En la segunda parte de este trabajo, que fue la obtención de azúcares cristalizado; se tomó como referencia el método utilizado para la obtención de azúcar cristalizado de la caña^{43,46}.

Antes de realizar la obtención de azúcares totales cristalizados en el aguamiel de *Agave americana* L. (maguey), se realizaron ensayos preliminares como control de materia prima; la evaluación organoléptica y fisicoquímica sirvieron para verificar que la muestra se encuentra en óptimas condiciones, y la evaluación microbiológica sirvió para

verificar la carga microbiana, tal como se realizan en el jugo de caña de azúcar antes de iniciar el proceso⁴³.

Durante la etapa de clarificación de aguamiel, como clarificante inicial se usó CaO; se realizó varios ensayos y se obtuvo una máxima precipitación de 10,17 mm en 15 ml de aguamiel a una concentración de 0,12g de CaO/L de aguamiel. El aspecto de aguamiel clarificado aún se pudo mejorar, para esto se usó $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ como clarificante además de CaO; para utilizar estos clarificantes se tuvo como referencia un trabajo anterior²². Al utilizar la mezcla de CaO y $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ se mejoró la clarificación, lo cual se evidenció con el aumento de la altura del sedimento hasta de 12 mm a una concentración 0,11 g de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ / L de aguamiel. Organolépticamente se verificó que, con la mezcla de los clarificantes se obtiene aguamiel mucho más transparente. A mayores concentraciones de los agentes clarificantes, la altura del precipitado fue disminuyendo; se debe a que ocurre la resolubilización del precipitado; al agregar una mayor cantidad de clarificante, la carga electrostática y el potencial Z del $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ se modifican, con lo cual se propicia la resolubilización del precipitado⁴³. El CaO tiene 2 funciones principales durante la clarificación: la primera es formar complejos con las sustancias coloidales y gomosas para removerlas por decantación, y la segunda es elevar el pH cercano a 7 para evitar la depolimerización de los fructooligosacáridos y las reacciones de oscurecimiento en procesos posteriores como el secado⁴³. En este trabajo, el pH obtenido después de la clarificación fue de 7,30, condición adecuada para evitar cualquier tipo de alteración en los azúcares. Durante la clarificación de aguamiel, también es muy importante tener en cuenta la temperatura óptima, que para el caso de este trabajo fue de 85 °C; cuando la temperatura sobrepasa los 85 °C, los precipitados formados se disuelven y además el producto toma una coloración verdosa y olor desagradable.

La concentración para la obtención de jarabe se realizó a través de la evaporación del agua de aguamiel aplicando un ligero vacío, en esta etapa fue muy importante controlar la temperatura de evaporación; cuando sobrepasa los 120 °C, se produce pardeamiento, tomando una coloración más oscura a medida que la temperatura aumenta; esto puede ser a que en los monosacáridos libres ocurre la caramelización a altas temperaturas y que también depende del tiempo⁴³. Por debajo de 105 °C se obtuvo un jarabe de buenas características organolépticas lo cual se muestra en la tabla 23.

Durante la cristalización, los cristales obtenidos a 115 °C tuvieron la mayor calificación por el panel de evaluación sensorial (tabla 26), en consecuencia, fue la mejor temperatura para esta etapa. Por encima de los 120 °C el azúcar toma mayor tiempo para cristalizar, aun cuando se bajó el tiempo, posiblemente puede ser por una inversión de los azúcares y la depolimerización de FOS con consiguiente problema de cristalización⁴⁴. Además de este problema a mayor temperatura el producto toma un color ámbar oscuro, sabor ligeramente amargo y olor a caramelo. La temperatura también tiene relación con el tamaño de los cristales, a temperaturas entre 105 °C y 110 °C se obtiene cristales de mayor tamaño (903 a 905 μm), mientras tanto a temperaturas entre 115 °C y 120 °C se obtienen cristales de menor tamaño (701 y 554 μm). Asimismo, la temperatura tiene relación con la forma de los cristales; a menor temperatura entre 105 °C y 110 °C se obtiene cristales de forma cúbica y con superficie lisa, mientras a temperaturas entre 115 °C y 120 °C se obtienen cristales amorfos y rugosos. A temperaturas menores se obtienen también productos con buenas características, pero el problema es que el tiempo de cada una de las operaciones se alarga demasiado y por lo tanto alarga el tiempo del proceso de obtención de azúcar de aguamiel, lo cual aumentaría el costo de producción.

Durante el secado de los cristales, se realizó ensayos para determinar la temperatura y tiempo de secado; durante esta etapa se evaluaron la humedad de los cristales para cada tiempo y temperatura, siendo la mejor temperatura de 115 °C y tiempo de 10 minutos; se obtuvo cristales que conservó las características iniciales. A mayor temperatura los cristales tomaron una coloración más oscura y además tomó un olor a caramelo; esto se debe a que a altas temperaturas ocurre la caramelización y depolimerización, esto genera también aumentaría la cantidad de sólidos insolubles.

La Norma Técnica Peruana establece que la humedad de los cristales de azúcar rubia de debe ser máximo 0,06% (NTP 207.007.2015)⁵⁰, los cristales obtenidos de aguamiel tienen una humedad ligeramente mayor (0,09%); es preciso tener en cuenta que los cristales azúcar obtenido de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) tiene características muy diferentes al de los cristales de azúcar de la caña, pero aún se puede mejorar automatizando el proceso.

Finalmente, a los cristales seleccionados con mejores características se realizaron las evaluaciones finales teniendo en cuenta la Norma Peruana para azúcar rubia (NTP 207.007.2015)⁵⁰. Según la tabla 33, el producto tiene buena calificación por el panel de evaluación, la escala de calificación para los cuatro atributos evaluados oscila entre muy bueno a excelente; según la tabla 35, el contenido de FOS se redujo (55,68%), mientras que el contenido de fructosa aumentó, esto se debió a que, durante el proceso se ha utilizado altas temperaturas lo cual habría generado la hidrólisis parcial de FOS.

Según la tabla 36, en el producto obtenido no hubo crecimiento microbiano, lo cual cumple con lo establecido en los requisitos para azúcar rubia de caña (NTP 207.007.2015)⁵⁰. El resultado de la evaluación microbiológica evidencia también el efecto de las altas temperaturas del proceso en la eliminación de los microorganismos.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

1. El aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) presentó $85,82 \pm 0,30$ % de humedad; $7,05 \pm 0,03$ de pH; $1,23 \pm 0,06$ % de azúcares reductores directos; $12,10 \pm 0,10$ % de azúcares reductores totales y $13,70 \pm 0,06$ de grados Brix.
2. El contenido de fructooligosacáridos (FOS) en el aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) fue de $10,89 \pm 0,07$ % con grado de polimerización (GP) de $4,04 \pm 0,09$; mientras tanto, los monosacáridos libres fueron $0,30 \pm 0,01$ % de glucosa y $0,93 \pm 0,01$ % de fructosa.
3. Del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) se obtuvo azúcares totales cristalizados con un rendimiento de $12,45 \pm 0,21$ %; con formas cúbicas y amorfas, con $701,67 \pm 15,89$ μm de tamaños y con buenas características organolépticas.
4. El contenido de FOS en los azúcares totales cristalizado del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) fue $55,68 \pm 0,12$ %; los azúcares libres como la glucosa y fructosa fueron $4,22 \pm 0,02$ % y $39,4 \pm 0,08$ % respectivamente.
5. Los azúcares totales cristalizado del aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) tuvo $0,21 \pm 0,01$ g/Kg de sólidos solubles; $0,09 \pm 0,02$ g% de humedad; $0,42 \pm 0,01$ de cenizas y $43,42 \pm 0,02$ de azúcares reductores directos. Los atributos sensoriales tuvieron una calificación en promedio de muy bueno a excelente y no presentó crecimiento microbiano en la evaluación microbiológica.

CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). Control del Cáncer: aplicación de los conocimientos; Guía para desarrollar programas eficaces; módulo 6. Ginebra; 2007.
2. Mussatto SI, Mancilha IM. Non-digestible oligosaccharides: A review. *J Carbohydrate Pol.* 2007; 68(3): 587-597. doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.12.011
3. Pardo O. Etnobotánica de algunas cactáceas y suculentas del Perú. *Chloris Chilensis*. Año 5. N° 1. Roma; 2003.
4. Soukup J. Vocabulario de los nombres vulgares de la flora peruana y catálogo de los géneros. Lima: Editorial Salesiana; 1970.
5. Bautista Cruz N. Estudio químico - bromatológico y elaboración de néctar de aguamiel de *Agave americana* L. (maguey) procedente de Ayacucho [Tesis de Grado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2006 [citado 26 de mayo de 2019] Recuperado a partir de: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/2335>
6. Montañez J, Venegas J, Vivar M, Ramos E. Extracción, caracterización y cuantificación de los fructanos contenidos en la cabeza y en las hojas del *Agave tequilana* Weber Azul. *J Bioagro.* 2011; 23(3): 199-206. doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2008.05.003
7. Rodriguez LT, Aldrete P, Pérez A, Ortiz RI, Campderrós ME. Assessment of agave fructans as lyoprotectants of bovine plasma proteins concentrated by ultrafiltration. *J Food Research International.* 2014; 56: 146-158. doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.014
8. Dávila CV. Estrategias para la comercialización de los derivados de la Cabuya (*Agave americana* L.). [Tesis de Maestría]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2002.
9. Yun JW. Fructooligosaccharides—Occurrence, preparation, and application. *J Enzyme and Microbial Technology.* 1996; 19(2): 107-117. doi.org/10.1016/0141-0229(95)00188-3
10. Apolinario AC, de Carvalho EM, de Lima Damasceno BPG, da Silva PCD, Converti A, Pessoa A, da Silva JA. Extraction, isolation and characterization of

- inulin from *Agave sisalana* boles. J Industrial Crops & Products. 2017; 108(July): 355-362. doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.045
11. De La Torre-Ruiz N, *et al.* (2016). Effect of plant growth-promoting bacteria on the growth and fructan production of *Agave americana* L. Brazilian Journal of Microbiology. 2016; 47(3): 587-596. doi.org/10.1016/j.bjm.2016.04.010
 12. Gómez R del C, Téllez SJ, Ramírez de León JA, Jacques C, Vázquez M. Aprovechamiento integral del *Agave americana* L. Revista UAT (On-line) 7. 2008 [citado 30 de enero de 2019]. Recuperado a partir de https://www.academia.edu/1323231/Aprovechamiento_integral_del_Agave_americana_L
 13. Martínez LI, Téllez SJ, Rodríguez GC, Palos I, Efrén M, Cuarenta J. Producción de azúcares fermentales a partir del *Agave tequilana* Weber variedad azul. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2016; 1(2): 226-230.
 14. Arrizon J, Morel S, Gschaedler A, Monsan P. Comparison of the water-soluble carbohydrate composition and fructan structures of *Agave tequilana* plants of different ages. 2010; 123-130. doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.028
 15. Gonzáles Cruz L. Influencia de la edad de *Agave atrovirens* Karw, en la actividad del complejo enzimático 1-SST-1-1-FFT en la concentración de carbohidratos solubles y su relación con la micro estructura [Tesis Doctoral]. Instituto Politécnico Nacional; 2011. [citado 20 de febrero de 2019]. Recuperado a partir de <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/9468/39.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 16. Martínez MG. Determinación, cuantificación e hidrólisis de inulina en el aguamiel de agave pulquero. [Tesis de Maestría]. México DF:Universidad Nacional Autónoma de México; 1999.
 17. Ramos CM, Tirado RM. Estudio fitoquímico y toxicológico, cuantificación de ácido oxálico por método permanganométrico y de absorción atómica; determinación de metales pesados por microscopía electrónica de barrido en las hojas de *Agave americana* L. (maguey) y *Bixa orellana* L.(achiote) [Tesis de

- Título]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marco; 1995.
18. Flores A, Mora R, Romero L. Caracterización fisicoquímica del aguamiel producido por tres variedades de *Agave spp.* cultivadas en el estado Tlaxcala. México D.F.; 1995. Recuperado a partir de <http://www.informatica.sip.ipn.mx/colmex/congresos/chiapas/cd/Alimentos%5CExtensos%5C642383.pdf>
 19. Gutiérrez D, Huaccaycachacc D. Estudio tecnológico a nivel planta piloto para la elaboración de jalea de chancaca a partir del zumo de Maguey (*Agave americana*). [Tesis de Título]. Huamang: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2006.
 20. López LG. Elaboración, control de calidad y evaluación de la actividad antidiabética de la miel de agave (*Agave americana* L.). Chimborazo:Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2013. Recuperado a partir de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3099/1/56T00408.pdf>
 21. Morales U, Martínez R. Estudio de la características de rehidratación de inulina en polvo obtenida por el método de secado por aspersión a partir de *Agave atrovirens* Karw. Mexico DF:Instituto Politécnico Nacional; 2005. Recuperado a partir de http://sappi.ipn.mx/cgpi/archivos_anexo/20050097_2231.pdf
 22. Roque G. Estudio de pre-factibilidad para la instalación de una planta de producción de bebida destilada a partir de la cabuya (*Agave americana* L.) en Churcampá. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2014. Recuperado a partir de http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1176/TesisIA249_Roq.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 23. Cabieses F. Apuntes de medicina tradicional. Lima:Consejo Nacional de ciencia y tecnología. CONCYTEC; 1993.
 24. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Cusco: Centro de Estudios Regionales Andinos Bartolomé de Las Casas. Serie ecología y desarrollo; 1999.
 25. Pardo O. El agave americano (*Agave americana* L.): uso alimentario en el Perú. Roma: Chloris Chilensis. Año 8 N° 2; 2005.

26. PRONAMACHS. Aspectos fitosanitarios y micorríticos en viveros forestales en la Sierra Peruana 1996 - 1997. Lima: Proyecto Forestería en Microcuencas Altoandinas del Pronamachs Femap FAO/GCP/033/Net-Donación del Gobierno del Reino de los países Bajos Holanda; 1998. 140p.
27. Niechayev NA, Jones AM, Rosenthal DM, Davis SC. Research paper : A model of environmental limitations on production of *Agave americana* L . grown as a biofuel crop in semi-arid regions. J of Experimental Botany. 2018; 1(December):1-11. doi.org/10.1093/jxb/ery383
28. Bernal, M. Desarrollo económico local y empresas en la región valles de Jalisco (México) 1999-2014. Jalisco: OIDLES, 25, 1-15;2018. <https://www.eumed.net/rev/oidles/25/valles-jalisco.html>
29. Bukasov SM. Las plantas comestibles de México, Guatemala y Colombia. De la traducción inglesa de M. H. y Leveld. Turrialba: Centro Agronómico de investigación de Turrialba; 1981.
30. Conway PL. Prebiotics and human health: The state-of-the-art and future perspectives. Näringsforskning. 2001; 45(1): 13-21. doi.org/10.3402/fnr.v45i0.1784
31. Sangeetha PT, Ramesh MN, Prapulla SG. Recent trends in the microbial production, analysis and application of Fructooligosaccharides. Trends in Food Science and Technology. 2005; 16(10): 442-457. doi.org/10.1016/j.tifs.2005.05.003
32. Lopez MG, Manacilla NA, Mendoza G. Molecular Structures of Fructans from *Agave tequilana* Weber var . azul. J. Agric. Food Chem. 2003; 51: 7835-7840. doi.org/10.1021/jf030383v
33. Ávila Á, Galicia N., Rodríguez ME, Olvera C, López A. Production of functional oligosaccharides through limited acid hydrolysis of agave fructans. Food Chemistry. 2011; 129: 380-386. doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.088
34. Kaur N, Gupta AK. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. Review. Journal of biosciences. 2002; 27(7): 703-714. doi.org/10.1007/BF02708379
35. Blaut M. Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. European

- Journal of Nutrition. 2002; 41(0): 1-1. doi.org/10.1007/s00394-002-1102-7
36. Maftai N. Probiotic, Prebiotic and Synbiotic Products in Human Health. *Frontiers and New Trends in the Science of Fermented Food and Beverages*. 2019: 0-19.
 37. Roberfroid MB, Delzenne NM. Dietary Fructans. *Annual Review of Nutrition*. 1998; 18(1): 117-143. doi.org/10.1146/annurev.nutr.18.1.117
 38. Swennen K, Courtin CM, Delcour JA. Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2006; 46(6): 459-471. doi.org/10.1080/10408390500215746
 39. Reddy BS. Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose Possible Mechanisms by Which Pro- and Prebiotics Influence Colon Carcinogenesis and Tumor Growth 1. *American society for Nutritional Sciences*. 1999: 1478-1482. doi.org/https://doi.org/10.1093/jn/129.7.1478S
 40. Dominguez AL, Rodrigues LR. An Overview of the Recent Developments on Fructooligosaccharide Production and Applications. *Food Bioprocess Technol*. 2014; 7: 324-337. doi.org/10.1007/s11947-013-1221-6
 41. Scholz-Ahrens KE, Schaafsma G, Van den Heuvel EG, Schrezenmeir J. (2001). Effects of prebiotics on mineral metabolism. *American Journal of Clinical Nutritio*. 2001; 73(2 SUPPL.). doi.org/10.1093/ajcn/73.2.459s
 42. Fukasawa T, *et al*. Identification of marker genes for intestinal immunomodulating effect of a fructooligosaccharide by DNA microarray analysis. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007; 55(8): 3174-3179. doi/abs/10.1021/jf062814q
 43. Chen JP. *Manual del azúcar de caña*. Mexico DF: Editorial Limusa; 1991.
 44. Sahu O. Assessment of sugarcane industry: Suitability for production , consumption , and utilization. *Annals of Agrarian Science*. 2018; 16(4): 389-395. doi.org/10.1016/j.aasci.2018.08.001
 45. Romero G. El proceso de elaboración de azúcar de caña. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2010. Recuperado a partir de http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9189/RomeroAgreda_G.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 46. Rein P. *Ingeniería de la caña de azúcar*, Berlín: Elbe Druckerei Wittenberg; 2012.

47. Egan H, Kir R, Sawyer R. Analisis Químico de los Alimentos de México DF: Pearson. Editorial Continental S.A; 1991..
48. International Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis II. Maryland: AOAC 19th ed; 2012.
49. Trinder P. Enzymatic and colorimetric method for determination of glucose. Annals of Clinical Biochemistry. 1969; 6: 24-26.
50. Norma Técnica Peruana (NTP). NTP 207.007:2015. AZÚCAR. Azúcar rubia. Requisitos. Lima: Dirección de Normalización – INACAL, 4ª Edición; 2015.
51. Espinosa J. Evaluación Sensorial de los Alimentos. La Habana: E. Universitaria, Ed.) (Dr.C. Raúl); 2007.
52. Institute of Food Technologists (IFT). Washington DC: The society for food Science and technology; 1981.

CAPÍTULO VIII. ANEXOS

Anexo 1. Formato de tarjeta utilizado para la calificación por el panel de evaluación sensorial

TARJETA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

Fecha: Hora:

I. Datos del panelista

- N°:
- Edad:
- Sexo:

II. Datos de la muestra

Muestra:

Etapas:

III. Instrucciones

Señores panelistas de evaluación sensorial, evaluar cada atributo sensorial en la muestra de manera independiente. Colocar la calificación en números según su opinión, considerando la escala de categorías presentada en el siguiente cuadro:

Calificación	
Escala de categorías	Escala nominal
Excelente	5
Muy bueno	4
Bueno	3
Regular	2
Malo	1

IV. Atributos sensoriales a evaluar y puntuación

Atributos	Puntuación
Color	
Olor	
Sabor	
Aspecto	

.....

Firma del panelista

Anexo 2. Medición de grado Brix de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” en el lugar de recolección



Anexo 3. Recolección de “aguamiel de *Agave americana* L. (maguey)” en el anexo San Antonio de Pomacocha, Vilcashuamán (Ayacucho)



Anexo 4. Identificación botánica *Agave americana* L. (maguey)

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Tel: 017512863 RPM 963689079
Email: joramde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 – INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:


Que, el Bachiller, **NELSON BAUTISTA CRUZ**, egresado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con fines de investigación científica, ha solicitado la certificación botánica de una planta procedente de la provincia Vilcashuamán, departamento Ayacucho, donde es conocida con los nombres comunes de: **maguey, agave, pajpa, chuchau**, la muestra ha sido estudiada y determinada como *Agave americana* L. Según el Sistema de Clasificación Botánica de Arthur Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Liliopsida
SUBCLASE	: Liliidae
ORDEN	: Liliales
FAMILIA	: Agavaceae
GENERO	: <i>Agave</i>
ESPECIE	: <i>Agave americana</i> L.

Nombres comunes: maguey, agave, pajpa, chuchau.

Se expide la presente certificación para los fines que se estime conveniente.

Lima, 14 de mayo del 2019


José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

